

THESIS

COPENHAGEN

1945



UNDERSØGELSER

OVER

RETICULOCYTMODNINGEN IN VITRO

AF

CLAUS MUNK PLUM

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305



NYT NORDISK FORLAG ARNOLD BUSCK

KJØBENHAVN MCMXLIV

Forsvaret finder Sted Tirsdag den 29. Februar 1944
Kl. 14 i Universitetsannexet, Studiestræde 6, o. G.

UNDERSØGELSER
OVER
RETICULOCYTMODNINGEN
IN VITRO



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNDERSØGELSER
OVER
RETICULOCYTMODNINGEN
IN VITRO

AF
CLAUS MUNK PLUM
//



NYT NORDISK FORLAG ARNOLD BUSCK
KJØBENHAVN MCMXLIV

Ve

788
78P

Denne Afhandling er af det matematisk-naturvidenskabelige Fakultet antaget til offentlig at forsvares for den filosofiske Doktorgrad.

København, 22. 12. 43.

P. F. V.

Bengt Strømgren,

h. a. decanus.

727859



FORORD

De i dette arbejde meddelte undersøgelser er udført paa A/S Medicinalco's biologiske laboratorium og er for en stor del udsprunget som resultat af talrige overvejelser og samtaler med min chef, Dr. med. Erik Jacobsen, under udarbejdning af andre hæmatologiske undersøgelser.

Til Direktør N. F. Lucassen staar jeg i dyb taknemmelighedsgæld, fordi Direktøren har tilladt mig at udføre disse undersøgelser paa A/S Medicinalco's laboratorium.

For mange lærerige samtaler, hjælp og raad paa mange omraader bringer jeg Professor, Dr. phil. August Krogh min hjerteligste tak.

For fremskaffelse af materiale til undersøgelserne bringer jeg Dr. med. vetr. N. Plum, Dyrlægerne Ottosen og Blom, og Slagtermester Mathiesen min bedste tak.

Overretssagfører H. Lauritzen bringer jeg min tak for hjælpen med renskrivningen af manuskriptet.

Dr. med. Erik Jacobsen har gennem samtaler og diskussioner om emnet fremskyndet mit arbejde. Jeg staar af denne grund i stor taknemmelighed til Dr. Jacobsen, og bringer ham min bedste tak.

Stud. polyt. Peter Plum har tegnet alle kurverne, hvorfor jeg bringer ham min tak.

Kolleger og personale paa laboratoriet bringer jeg min tak for godt kammeratskab gennem disse aar, specielt vil jeg bringe Fru Else Kjellberg og Frøken Ida Milwertz min tak for hjælpen med de talrige tællinger af reticulocyterne.

Endelig takker jeg min hustru, Læge Ruth Plum, for utrættelig hjælp under arbejdet og ved udarbejdning af min afhandling.

København, Januar 1943.

Claus Munk Plum.

INDHOLDSFORTEGNELSE

Kapitel	FØRSTE AFSNIT	Side
I.	Tidligere reticulocytmogningsforsøg	16
II.	Reticulocyttudviklingen belyst ved »differentieltælling« a. m. <i>Trachtenberg</i>	23
III.	Reticulocyt-mængden i organismen	28

ANDET AFSNIT

IV.	Experimentel reticulocytose fremkaldt ved aareladning	36
V.	Bestemmelse af reticulocyt-mængden	41
VI.	Forsøgsteknik	50
VII.	Egne undersøgelser over reticulocyttudviklingen med henblik paa fordelingen af de forskellige aldersgrupper indenfor disse grupper	56
VIII.	Modningsindex	63
IX.	Undersøgelser over blodets indhold af reticulocytmognings- stoffer	85
X.	Undersøgelser over opbevaringstiden og opbevaringstempera- turens indflydelse paa plasma's og serum's evne til at paavirke reticulocytmodningen	88
XI.	Temperatures indflydelse paa reticulocytmodningen in vitro	91
XII.	Reticulocytmodningens afhængighed af tilsatte modningsstof- fer og disses mængde og koncentration	95
XIII.	Undersøgelser over forskellige stoffers indflydelse paa reti- culocytmodningen	100

TREDIE AFSNIT

XIV.	Variationen i plasma's modningsindex hos forskellige dyrearter	107
XV.	Undersøgelser over plasmaindholdet af modningsstoffer hos unge dyr	126

Kapitel	Side
XVI. Den experimentelle reticulocytose og aareladningsanæmis indflydelse paa modningsindex	113
XVII. Andre experimentelle anæmier og deres indflydelse paa plasmaindholdet af reticulocytmodningsstoffer	137

FJERDE AFSNIT

XVIII. Undersøgelser over forholdet mellem modningsindex og reticulocyt-mængden hos mennesker	151
XIX. Undersøgelser over reticulocytmodningsindex hos en patient med anæmia perniciosa	156

FEMTE AFSNIT

XX. Kemiske undersøgelser over de i leverextrakter forekommende reticulocytmodnende stoffer	159
XXI. Undersøgelser over det reticulo-endotheliale systems betydning for koblingen mellem det præformerede reticulocytmodningsstof og tyrosin eller et tyrosinlignende stof	162
XXII. Undersøgelser over forskellige organers indhold af reticulocytmodningsstoffer	168
XXIII. Tidligere undersøgelser over ventriklens betydning for erythropoesen	187
Resumé	193
Litteraturfortegnelse	203

INDLEDNING

Formaalet med de i dette arbejde meddelte undersøgelser har været at belyse reticulocytmodningen og de hos forskellige dyrearter forekommende stoffer, der i stand til at paavirke denne modning af reticulocyterne.

Under tidligere foretagne undersøgelser over erytropoesen i foetallivet kom jeg ind paa spørgsmaalet om, hvorvidt der findes stoffer, der betinger dennes igangsættelse, vedligeholdelse og regulation. Da reticulocyternes antal efter den almindelige opfattelse kan anvendes som et maal for erytropoesens intensitet, jvf. reticulocytreaktionen ved leverbehandlingen af den perniciøse anæmi, valgte jeg at begynde med at undersøge reticulocyternes modningsproces med særligt henblik paa de faktorer, som influerer paa denne.

Reticulocyterne er at opfatte som et naturligt gennemgangsstadium indenfor erytropoesen, og disse celler lader sig med nogenlunde lethed bestemme i det cirkulerende blod, en undersøgelse, der er almindelig anvendt indenfor kliniken. Deres antal lader sig experimentelt forøge, saaledes at man let har adgang til at undersøge deres udvikling nøjere ved in vitro forsøg.

Reticulocytstadiet har som alle udviklingsstadier en vis varighed, der angives meget varierende. De i dette arbejde

meddelte forsøg har vist, at der i organismen findes stoffer, der er nødvendige for reticulocyternes modning, ligesom man fandt, at man paa forskellig vis er i stand til at paavirke denne modning. De stoffer, der er i stand til at paavirke modningen, findes saavel i plasma som i organismens forskellige organer i mængder, der er i nøje relation til den forhaandenværende reticulocyt-mængde.

I nærværende arbejde har jeg samlet en del undersøgelser, der tidligere omend i forkortet form har været offentliggjorte, og suppleret disse med en række nye undersøgelser. Denne sammenskrivning er foretaget, fordi jeg anser en samlet fremstilling af disse paa forskellige steder publicerede, men dog nøje sammenhørende resultater, for værdifuld. Endelig har jeg herved faaet lejlighed til at give en fremstilling af mine forsøgsresultater paa dansk.

Hvilke resultater der tidligere har været enten helt eller delvis offentliggjorte, vil fremgaa af det følgende.

I *acta med. scand.* 1942, CXII, 151, meddeltes for første gang den anvendte metode (Kapitlerne VIII og XVIII) i sammenhæng med nogle undersøgelser over indholdet af modningsstoffer i menneskeplasma (Kapitel XVIII). Disse undersøgelser over normalt menneskeplasmas indhold af modningsstoffer blev senere suppleret med undersøgelser over indholdet af modningsstoffer i plasma hos en patient med *anæmia perniciosa* (Kapitel XIX).

Kort efter den første meddelelse om disse undersøgelser blev der i *acta physiol. scand.* 1942, 4, 259, gjort rede for reticulocytmodningens afhængighed af temperaturen (Kapitel XI), koncentrationen af modningsstoffer samt mængden af undersøgelsesvædske (Kapitel XII). I samme arbejde omtaltes va-

riationerne i de enkelte reticulocyttyper under modningen (Kapitel VII).

Efter at jeg sammen med Dr. med. Erik Jacobsen havde undersøgt forskellige kemiske forhold vedrørende det i leverextrakt forekommende reticulocytmogningsstof (Kapitel XX) samt det reticulo-endotheliale systems betydning for organismens dannelse af mogningsstoffer (Kapitel XXI), fortsatte jeg mine undersøgelser over plasmaets indhold af reticulocytmogningsstoffer hos en række forskellige dyrearter, og meddelte disse i *acta physiol. scand.* 1943, 5, 165 (Kapitel XIV). Da disse undersøgelser kun drejede sig om normale dyr med normal erythropoese, udvidedes disse undersøgelser med en række undersøgelser paa dyr med *forøget erythropoese*, dels experimentelt (bl. a. aareladning), dels paa unge, ikke hæmatologisk udviklede dyr, *acta physiol. scand.* 1943, 5, 175 (Kapitel XV og XVI).

Alle disse tidligere meddelte forsøg blev som nævnt foretaget for at undersøge, hvorvidt der findes stoffer, der betinger erythropoesens igangsættelse, vedligeholdelse og regulation, hvorfor jeg efter disse orienterende forsøg gav mig i kast med at undersøge, hvor i den dyriske organisme disse stoffer dannes. Til disse forsøg anvendte jeg organer fra en række dyr af samme art, som tidligere var undersøgt med hensyn til mængden af mogningsstoffer i plasmaet, idet jeg ønskede at belyse to spørgsmål: 1) om der hos forskellige dyrearter og hos det enkelte individ indenfor samme dyrearter er relation mellem mængden af reticulocytmognende stoffer i plasma og i de forskellige organer, og om der er en relation mellem mængden af reticulocytmogningsstoffer i plasma og reticulocyt-mængden; 2) hvor i organismen disse reticulocyt-

modningsstoffer dannes og om de findes i organerne som færdigdannede modningsstoffer eller kun i præformeret, d. v. s. tyrosinaktiverbar tilstand (Kapitel XXII).

De undersøgelser, der ikke tidligere har været offentliggjorte, danner sammen med de tidligere arbejder, efter min mening et hele, der dog kun er de første led i en række undersøgelser over de faktorer, der er af betydning for bevarelsen af det normale blodbillede.

FØRSTE AFSNIT

Siden *Ehrlich* (1881) første gang omtalte reticulocyterne, har denne celletype været behandlet af mange undersøgere og givet anledning til talrige diskussioner om, hvoraf den reticulære substans bestaar og om dens betydning. Størstedelen af disse diskussioner har dog kun morfologisk interesse, hvorfor jeg i nærværende arbejde ikke skal komme nærmere ind paa disse, men kun kort gengive den nu gældende almindelige opfattelse af reticulocyternes stilling i de røde blodlegemers udviklingsrække.

Som bekendt dannes de røde blodlegemer hos den voksne organisme i den røde knoglemarv. Stamcellen er *hæmocytoblasten* eller *histiocyten*, der er en stor celle, hvor kærnen indtager saa godt som hele cellens rumfang. Protoplasmaet er basofilt. Hæmocytoblasten udvikler sig til den saakaldte *pronormoblast*, der adskiller sig morfologisk fra hæmocytoblasten derved, at kærnen er noget fastere i strukturen, protoplasmaet er rigeligere end hos hæmocytoblasten, men er stadig rent basofilt. Pronormoblasten er 20—25 μ stor. Efterhaanden aftager pronormoblasten i størrelse, og man finder en celle, der er 10—15 μ stor, hvor kærnen er mere kompakt, og protoplasmaet fremdeles er basofilt; denne celletype betegnes som den *basofile normoblast*. Nu begynder der at dannes hæmoglobin i cellens protoplasma, der derved bliver polychromatisk; cellen aftager yderligere i størrelse til 8—10 μ . Man har da faaet dannet den saakaldte *polychromatiske normoblast*. Dannelsen af hæmoglobin tiltager i cellen, mens de basofile elementer forsvinder, saaledes at protoplasmaet efterhaanden bliver ortochromatisk; samtidigt bliver

kærnen mindre. Cellens diameter er nu 7—9 μ . Denne *ortochromatiske normoblast* mister sin kerne, og vi faar da *normocyten* eller *erythrocyten*.

Spørgsmaalet om hvorledes den ortochromatiske celle mister sin kerne, diskuteres daglig, og det vil føre for langt at komme ind paa disse teorier, hvorfor de 2 hovedteorier blot skal nævnes: Nogle forskere hævder, at der finder en karyolyse sted, medens andre hævder, at kærnen udstødes af cellen.

Samtidigt med, at der begynder at dannes hæmoglobin, optræder der en substans i cellernes protoplasma, der er karakteriseret ved sin særlige struktur, idet den bestaar af smaa granula, der indbyrdes er knyttet sammen med fine traade hvorefter navnet: *Substantia granulo-filamentosa*. Disse celler har paa grund af deres struktur faaet navnet *reticulocyter*. *Substantia granulo-filamentosa* farves med basiske anilinfarver, og det er kun muligt at faa strukturen frem ved farvning af den levende celle, den saakaldte supravitale farvning eller forkortet det mindre korrekte: Vitalfarvning.

Mængden af den supravitalfarvelige substans tiltager, efterhaanden som hæmoglobindannelsen skrider frem, bibeholdes i nogen tid, efter at cellerne har mistet deres kerne, og aftager derefter langsomt for tilsidst at forsvinde fra cellerne.

Reticulocyterne maa saaledes betagtes som et normalt led i udviklingsrækken af de røde blodlegemer. Hos normale voksne dyr varierer antallet af kærneløse eller egentlige reticulocyter i blodbanen fra dyreart til dyreart mellem 0—30 %; hos nyfødte dyr finder man adskilligt flere, saaledes har den nyfødte rotte ca. 90 %. Hvor der af en eller anden grund er tale om en forøget erytropoese, finder man en stigning i antallet af reticulocyter i det cirkulerende blod, et forhold der i den medicinske klinik anvendes som kriterium paa en livlig erytropoese.

I litteraturen findes et stort antal undersøgelser over antallet af reticulocyter i det cirkulerende blod under normale og patologiske forhold; men der findes kun meget faa undersøgelser over reticulocyternes fysiologi. Vor viden om deres levetid, forhold der influerer paa deres modning til strukturløse, normale erythrocyter o. s. v., er stærkt begrænset.

Formaalet med de i dette arbejde meddelte undersøgelser, har været at undersøge de faktorer, som er af betydning for reticulocyternes udvikling in vitro til fuldmodne erythrocyter uden substantia granulo-filamentosa, og dermed bidrage til vor viden om dette udviklingstrin i de røde blodlegemers udviklingsrække.

FØRSTE KAPITEL

Tidligere reticulocytnodningsforsøg.

Der foreligger i litteraturen talrige undersøgelser over udviklingen af reticulocyter *in vitro*.

Key (1921) er den første, der har undersøgt reticulocyternes levetid i blod, hvis koagulation var hindret med tilsætning af Na-oxalat, og han finder, at man endnu efter 16 dages opbevaring i isskab kan finde reticulocyter i saavel »oxalatblod« som i defibrineret blod.

Pepper (1922) undersøgte disse forhold dels paa kaninblod, dels paa menneskeblod. Kaninerne blev gjort anæmiske enten ved aareladning eller ved injection af natriumoleat, dog undlod han at bruge blod fra virkelig dybt anæmiske dyr af frygt for eventuelle forandringer i den osmotiske resistens eller lignende. Nogle prøver blev hensat ved 8° i isskab, andre opbevaret ved legemstemperatur, hvorefter der med mellemrum blev foretaget reticulocytbestemmelser.

Af hans resultater fremgaar det, at reticulocyterne genfindes omend ikke i fuldt samme antal i defibrineret blod opbevaret i isskab i over en maaned. Allerede efter tre ugers forløb var der et svind i reticulocyt-mængden, samtidig med, at der kunde iagttages strukturforandringer i de enkelte celler, idet der nu saas enkelte smaa korn, der ligeledes lod sig farve af brilliant-kresylblaat.

Disse korn, mente han, var en begyndende opløsning af substansen, men de maa efter beskrivelsen snarere opfattes som veludtalte reticulocyter af type IV efter *Trachtenbergs* (1932) reticulocytinddeling (se senere).

Ved opbevaring af citratblod ved legemstemperatur indtraadte der efter 24 timers henstand hæmolyse, der gjorde, at

bestemmelserne blev meget unøjagtige; i modsætning hertil lader defibrineret blod sig opbevare længere tid ved legemstemperatur, og man ser ved undersøgelser heraf, at reticulocytmængden svinder betydeligt hurtigere end ved opbevaring i isskab.

Af *Peppers* forsøgsresultater frembyder et enkelt forsøg følgende tal: Ved forsøgets begyndelse er der 6—7 % reticulocyter, efter 17 timers henstand ved legemstemperatur: 6 %, efter 24 timer: 4 %, efter 48 timer: 2 % og efter 72 timer fandt han ingen reticulocyter; en tilsvarende blodprøve opsat i isskab viste ingen nedgang i reticulocytantallet selv efter tre ugers henstand. *Pepper* siger, at allerede efter 66 timer fandtes der ikke længere veludviklede reticulocyter i blod, som var hensat ved legemstemperatur, saa man maa eventuelt regne med en kortere reticulocytlevetid i det cirkulerende blod.

Samtidig med, at blodet henstaar, hvadenten det er i isskab eller i thermostat, udvikles der i løbet af de første 24—48 timer smaa carmoisinfarvelige intracellulære granula i vekslede antal, 1—8, varierende i størrelse fra støvkorn til $\frac{1}{6}$ erythrocytdiameter. Disse granula mister hurtigt farven, ligesom de ikke lader sig farve med de almindelige farvevædske, men tegner sig som lysende partier i cellen.

Disse granula er efter alt at dømme identiske med den af *Cesaris-Demel* (1907) beskrevne »substantia metachromatica«, senere blandt andet ogsaa beskrevet af *Schilling-Torgau* (1910), *Pappenheim* (1910), *Key* (1921) og *Davidson* (1930).

Pappenheim antager, at disse granula er af lipoid karakter, hvad *Key*, der blandt andet ogsaa har set dem i friskt blod fra anæmiske dyr, ligeledes mener. Disse dannelser er utvivlsomt ikke af mitochondrial oprindelse, ligesom man ikke maa opfatte dem som vacuoler, der kan optræde baade i reticulocyter og erythrocyter, men de maa snarere paa grund af deres hyppigere optræden i opbevaret blod opfattes som et degenerationstegn, en anskuelse allerede *Cesaris-Demel* gjorde gældende; men hvorfor de udelukkende optræder i reticulocyterne, er endnu ikke klarlagt.

Medens *Pepper* mener, at der sker en udvikling af reticulocyterne i det opbevarede blod, antager *Denecke* (1923) udfra

lignende forsøg, at det reticulocytsvind, der finder sted i opbevaret blod, skyldes en hændelse af cellerne. Dette, mener han, understøttes af det forhold, at man aldrig ser vitalfarvelig substans i cellerne i tørrede og fixerede præparater. *Denecke* viser, at der er en tydelig forskel i den hastighed, hvormed reticulocyterne forsvinder fra blodet, naar dette opbevares ved forskellige temperaturer, og han finder, at reticulocyterne i thermostat ved 37° forsvinder i løbet af 24 timer, medens han i samme tidsrum kun finder et svind paa 25 % af reticulocyterne i blod opbevaret ved stuetemperatur, og intet svind i den prøve, der opbevaredes i isskab (4°).

Deneckes undersøgelser blev fortsat af *Seyfarth* (1927). Han undersøgte svindet af reticulocyter i saavel citrat- som oxalat-blod, og fandt, at de forsvinder totalt fra den opsatte blodprøve i løbet af 60 timer, en tid, der svarer til den af *Denecke* iagttagne. Ved undersøgelser af blodprøver anbragt i thermostat fandt han, at reticulocyterne her svinder hurtigere, ligesom han saa, at naar blodprøven opbevaredes i isskab, var reticulocytindholdet uforandret gennem længere tid.

Disse forsøg over reticulocyternes forhold i opbevaret blod giver anledning til, at man maa formode, at der foregaar en udvikling af reticulocyterne, dersom man da ikke vil give *Denecke* ret i hans anskuelse, at reticulocyterne dør og derved mister deres vitalfarvelighed. Denne sidste teori imodegaas ganske af undersøgelser gjort dels paa intact blod, dels ved in vitro forsøg.

Riddle (1930) beskæftigede sig med forholdet i blodbanen, idet han undersøgte reticulocytstigningen hos patienter med pernicios anæmi under leverbehandling. Ved en nøje matematisk behandling af de fundne værdier kommer han til det resultat, at de i blodbanen cirkulerende reticulocyter, som alle stammer fra knoglemarven, er 2 dage om at forvandles til strukturløse erythrocyter, ligesom han mener, at modningstiden er afhængig af den indgivne levermængde, idet han fandt, at hos patienter, der reagerede trægere for leverbehandlingen, havde reticulocyterne en forlænget levetid.

Lignende iagttagelser er gjort af *Cohn, Minot, Alles & Salter* (1928) under leverbehandling. De kommer dog til en noget

længere levetid for reticulocyterne, idet de mener, at det tager 5—10 Dage for reticulocyterne at udvikles til erythrocyter. Det er dog muligt, at deres patienter har været let underdoserede, og at de ikke har taget hensyn til eventuelt nydannede reticulocyter efter krisen. *Seyfarth & Jürgens* (1928) har undersøgt reticulocyternes forhold hos musefostre og nyfødte museunger, og viser, at samtidig med at erythrocyttallet stiger svarende til musens udvikling, falder reticulocytprocenten, og de mener derved ogsaa at finde et udtryk for reticulocytlevetiden.

Alle disse forsøg in vivo stemmer nøje med de tidligere iagttagelser og med de nyere undersøgelser in vitro, hvoraf skal nævnes undersøgelser af *Heath & Daland* (1930—1931) og *Heilmeyer & Westhäuser* (1932).

Heath & Daland foretog undersøgelser paa kaninblod og paa blod stammende fra patienter med pernicios anæmi under remission. For at faa et forhøjet reticulocytaltal hos kaninerne blev disse gjort anæmiske enten ved gentagne aareladninger eller ved behandling med fenylyhydrazin injiceret intraperitonealt. Blodprøverne blev taget under sterile betingelser, strax efter defibrineret og fordelt paa smaa prøveglas indeholdende 0,5 ccm blod og derefter anbragt i thermostat, saaledes at der var et glas for hvert af de undersøgte tidsintervaller.

Af hver prøve blev der lavet udstrygningspræparater farvet med brilliantkresylblaat og efterfarvet ad modum *Wright*.

Ved undersøgelser over reticulocytmodning ved 37° blev der taget prøver hver 24' time. *Heath & Daland* fandt her, ligesom *Pepper, Denecke* og *Seyfarth*, at reticulocyterne svandt langsomt, først efter 3—4 dage var de totalt forsvundet. I de første tre dage var der intet svind i erythrocytmængden, men paa den 4' dag saas der en begyndende hæmolyse. *Heath & Daland's* undersøgelsesresultater viser, at svindet af reticulocyter forløber efter en almindelig exponentialkurve, saaledes som det sædvanligvis er tilfældet med enhver proces, der skyldes en aldersudvikling. Kurvens Hældning fandt de forskellig for kaninblod og menneskeblod, men uafhængig af aarsagen til den forøgede mængde reticulocyter i blodbanen, hvilket maa tydes saaledes, at reticulocyterne, naar de optræder, er af

samme art, og at deres udvikling kun er afhængig af det milieu, hvori de befinder sig.

For at undersøge udviklingen under fysiologiske forhold prøvede *Heath & Daland* at indsprøjte 8—10 ccm defibrineret blod i pleurahulen hos sunde kaniner; hvorefter de med 24 timers mellemrum udtog prøver heraf og bestemte reticulocyt-mængden. Herved fandt de ligeledes, at reticulocytantallet aftog, og efter 3—4 dages forløb var de totalt forsvundet. Erythrocyttallet var uforandret, men der fandtes talrige store rigt vacuoliserede fagocytter, ligesom blodets viscositet syntes at være let forøget.

Lignende forsøg over reticulocytmodningen gjorde de ved transfusion af blod fra kaniner med reticulocytose til normale kaniner. Ved transfusion af blodet viste der sig en stigning af reticulocyterne til det dobbelte af kaninens normale tal, og efter 12—48 timer var reticulocyt-mængden normalt igen. *Heath & Daland* tør ligesom *Robertson* (1917), der ogsaa har undersøgt dette forhold, ikke slutte noget om reticulocytmodningen udfra de fundne tal, idet de anfører: 1) at reticulocyt-mængden hos et normalt dyr er stærkt svingende, 2) at fejlen ved at tælle paa saa lave værdier er stor, 3) at selve transfusionen kunde give anledning til reticulocytstigningen. De slutter dog af deres forsøg, at de indgivne reticulocyter ikke strax nedbrydes for eksempel ved fagocytær virksomhed eller ved nedbrydning i et eller andet organ; saaledes at disse forsøg trods alt giver et lille indtryk af reticulocyternes levetid.

Herhjemme har *Marcussen* (1940), undersøgt forholdet ved transfusion af reticulocytholdigt blod til kaniner med experimentel polycytemi. *Marcussen* kommer til et ganske andet resultat med hensyn til reticulocyternes levetid, idet de under disse forsøgsbetingelser skulde have en levetid paa mindre end 24 timer.

Ved forsøg med reticulocyter opbevaret ved temperaturer under 37° har *Heath & Daland* vist, at svindet var betydeligt mindre, idet de saa, at ved opbevaring ved 10° fandtes der endnu reticulocyter efter 6 maaneders forløb (!).

Problemer, som ofte har gjort sig gældende ved disse modningsforsøg med reticulocyter in vitro, er: hvilke forandringer

indtræder der i det opbevarede blod? og hvorledes staar de i relation til ændringerne i reticulocyt-mængden?

Disse forhold har *Heath & Daland* ligeledes undersøgt. En af de væsentligste forandringer der indtræder, er hæmolysen; allerede efter kort tids opbevaring indtræder der hæmolyse, og denne frigørelse af hæmoglobin kunde muligvis have nogen betydning for modningen af reticulocyterne, hvad de dog ikke kunde paavise. Hvorledes er reticulocyternes stabilitet? Er de mere eller mindre resistente end erythrocyterne? *Pepper* har ikke kunnet vise, at der var nogen forskel i erythrocyternes og reticulocyternes resistens. Senere undersøgelser blandt andet af *Minot & Buckmann* (1923), *Isaacs og medarbejdere* (1925) og *Klima og Rosegger* (1934) har vist, at reticulocyterne ikke er mindre resistente end erythrocyterne, men at de snarere under visse forhold er mere resistente. Sammenholdes dette med det forhold, at det største fald i reticulocyt-mængden ses svarende til de første 24 timer, hvor der er mindst hæmolyse, maa det siges, at hæmolysen ikke spiller nogen rolle for reticulocyternes forsvinden.

Heilmeyer & Westhäuser (1932) har undersøgt reticulocyternes udvikling i defibrineret blod fra patienter med pernicious anæmi. De finder resultater, der er ganske overensstemmende med de tidligere fundne resultater for reticulocyt-svindet under opbevaring ved forskellige temperaturer.

Samtidigt med, at de undersøgte disse forhold, bestemte de cellernes iltforbrug, idet tidligere forsøg, *Harrop, J. A.* (1919), *Denecke* (1923), *Hirschfeld* (1925) og *Barer, A. P., Needless, R. J. & Baldrige* (1929—30) havde vist, at mens reticulocyterne havde et vist iltforbrug, saa var erythrocyterne ude af stand til at forbruge ilt. Ved disse undersøgelser fandt *Heilmeyer & Westhäuser*, at reticulocytholdigt blod havde et vist iltforbrug ved 37° i de første to døgn, medens de derefter iagttagne fænomener maa siges at være postmortelle forandringer, ganske som *Denecke* (1923) og *Riddle* (1930) mente det. Ved lavere temperaturer fandt de, at cellerne var i stand til at forbruge ilt i flere dage.

Resumé:

Efter en kort gennemgang af reticulocyternes stilling indenfor det erytropoetiske system, gøres der rede for nogle af de undersøgelser, der tidligere har været foretaget, for at vise, at reticulocyterne virkelig er celler i udvikling, og for de forsøg, der har været gjort for at bestemme deres udviklingstid.

ANDET KAPITEL

Reticulocyttudviklingen belyst ved »differentialtælling« a. m. Trachtenberg.

Det billede, man faar af reticulocyterne, viser, med hensyn til mængden af substantia granulo-filamentosa, i det enkelte blodlegeme stærkt vekslende forhold. Disse forskelligheder foranledigede *Cesaris-Demel* (1907) til at inddele reticulocyterne i tre grupper efter mængden af substantia granulo-filamentosa, uden at han dog dermed vilde antyde nogen udvikling fra den ene gruppe til den anden.

Undersøgelser af *Rosin & Bibergeil* (1904), *Lee, Minot & Vincent* (1916), *Seyfarth* (1927), *Seyfarth & Jürgens* (1928), *Moldowsky* (1928), *Gawrilow* (1929), *Heath & Daland* (1930) og *Riddle* (1930) har vist, at denne fordeling af substantia granulo-filamentosa følger en regelbunden udvikling, som følge af, at reticulocyttadiet maa betragtes som en periode i erythrocyternes udvikling. Undersøgelser af *Seyfarth* (1927) viser, at man ikke finder denne substans i erythroblastene, saalænge disse endnu er hæmoglobinfrie celler, men at substantia granulo-filamentosa først begynder at optræde i cellerne samtidigt med, at hæmoglobinet dannes. Substansen findes efter *Seyfarth's* undersøgelser til at begynde med kun som en kappe omkring kærnen, for senere samtidigt med kærnens henfald at skifte udseende, saaledes at man kan opstille flere grupper indenfor reticulocyterne efter substansens fordeling i cellen.

Gawrilow (1929), *Heilmeyer* (1931) og *Trachtenberg* (1932) er blandt de første, der gør sig til talsmænd for en virkelig inddeling i aldersgrupper, denne er senere blevet fulgt

af talrige undersøgere, *Ungricht* (1938), *Forssell* (1939), *Larsen & Skadhauge* (1941) og *Plum* (1941).

Minouch & Schwalm (1934) har ligeledes anvendt denne metode og ført den et skridt videre, idet de indfører en »index«, idet de uddifferentierer reticulocyterne i de af *Trachtenberg* angivne grupper. »Index« udtrykkes ved formlen:

$$\text{Gruppe O} + \text{I} + \text{II} + \text{III} \\ \text{Gruppe IV}$$

Denne »index« skulde give et tydeligt billede af erytropoesens hastighed, hvad der ofte kan have stor klinisk betydning. Der ses blandt andet en udtalt forskydning i »index« med alderen hos mennesker, *Plum* (1941).

I det her foreliggende arbejde har man valgt at følge den af *Trachtenberg* foreslaaede inddeling i 5 grupper, idet denne inddeling forekommer mest veldefineret og klar, saaledes at man med nogen øvelse let kan afgøre, til hvilken gruppe en reticulocyt skal henføres.

Trachtenberg's 5 grupper er defineret saaledes:

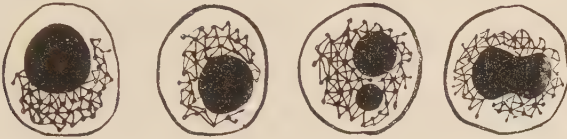
Gruppe 0: *Kærneholdige reticulocyter. Den vitalfarvelige substans ligger som et tæt net omkring kærnen, uden om dette net ses atter en fri protoplasmabræmme.* Denne beskrivelse af gruppe 0 svarer nøje til de forhold *Seyfarth* (1927) meddeler. Undersøgelser af *Jacobsen* og *Plum* (1942) viser, at man i blodlegemer hos rottefostre kan finde *substantia granulo-filamentosa* i varierende mængde og fordelt omkring cellekærnen paa forskellig maade, idet substansen kan have et udseende, der varierer som angivet i de følgende grupper (I—IV). Kærneholdige celler med kun enkelte granula i protoplasmaet skulde saaledes repræsentere det første trin i reticulocytudviklingsrækken.

Gruppe I: *Nøgleformen. Den vitalfarvelige substans ligger som et tæt net med enkelte lostliggende netdele. Nettet er altid centralt beliggende, og kan undertiden have karakter af en ring.*

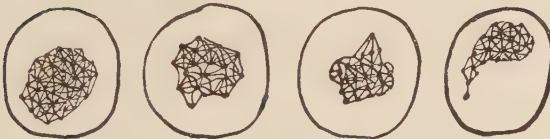
Gruppe II: *Netformen. Den vitalfarvelige substans ligger som et vidtmasket net over det meste af cellen.*

Gruppe III: Ufuldstændig netform. Den vitalfarvelige substans er nu ved at gaa i opløsning, men den største del af netstrukturen er endnu bevaret.

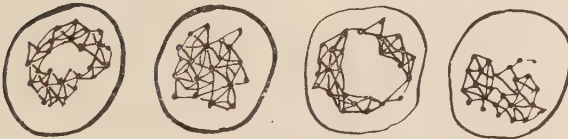
Gruppe IV: Den vitalfarvelige substans ses hovedsageligt i form af granula, af hvilke kun faa er forbundne indbyrdes med fine traade.



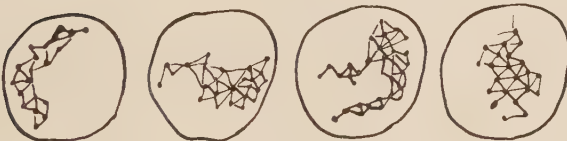
Gruppe 0.



Gruppe I.



Gruppe II.



Gruppe III.



Gruppe IV.

Fig. 1.

Exempler paa reticulocyter af de forskellige grupper.

Denne inddeling er ikke meget anvendt endnu, men den giver et godt billede af den udvikling, der finder sted indenfor reticulocyterne saavel i knoglemarv som i blodbanen. Arbejder af bl. a. *Ungricht* (1938) tyder paa, at den ogsaa vil faa betydning indenfor den medicinske klinik.

Heath & Daland (1930) har undersøgt reticulocytmodningen in vitro og har der, foruden de tidligere nævnte iagttagelser af svindet af reticulocyterne, iagttaget en forandring af disse cellers struktur under forsøget.

I celler hvor den »egentlige« *substantia granulo-filamentosa* var forsvundet, iagttog *Heath & Daland* smaa granula i et varierende antal (1—20). Granula farvedes baade af brilliantkresylblaat og med *Wright's* farve. *Heath & Daland* mener derfor, at de er identiske med de af *Schilling* (1928) beskrevne »erytrokonten«, som *Schilling* har iagttaget ved forskellige blodsygdomme. *Pepper* (1922) har iagttaget lignende forandringer, men har dog ikke ment, at de kunde være identiske med den før ham af *Cesaris-Demel* (1907) beskrevne »*substantia metachromaticogranulosa*«. Disse granula synes heller ikke at være identiske med *Howell-Jolly*-legemer eller de af *Morris* (1913) beskrevne granula.

Der var flest granulerede celler 1—2 dage efter blodprøvetagningen, hvorefter de aftager jævnt parallelt med svindet af reticulocyterne.

Denne celletype synes at falde sammen med de celler, der betegnes som »basofilt punkterede«, men mest af alt svarer de til reticulocyter, der efter *Trachtenberg* (1932) klassificeres i gruppe IV. Et forhold der senere skal belyses ved egne undersøgelser.

Heilmeyer & Westhäuser (1932) har noje undersøgt reticulocyternes udvikling in vitro og foretaget undersøgelser af de forskellige grupperes forsvinden, idet de har fulgt den af *Trachtenberg* foreslaede inddeling. De finder en absolut lov-bunden udvikling af reticulocyterne, idet de første grupper (I og II) forsvinder først og derefter de andre, saaledes at der efter 48 timer kun findes ubetydelige rester af gruppe IV. Det vises endvidere, at gruppe IV, for det reelle svind indtræder, har udvist en stigning, noget lignende som den *Heath*

& Daland finder, hvis man regner deres celleform med granula for reticulocyter af type IV.

Heilmeyer & Westhäuser's undersøgelser er et slaaende bevis for, at den opstillede udviklingsrække giver et virkeligt billede af reticulocyternes udvikling, og de af dem fundne

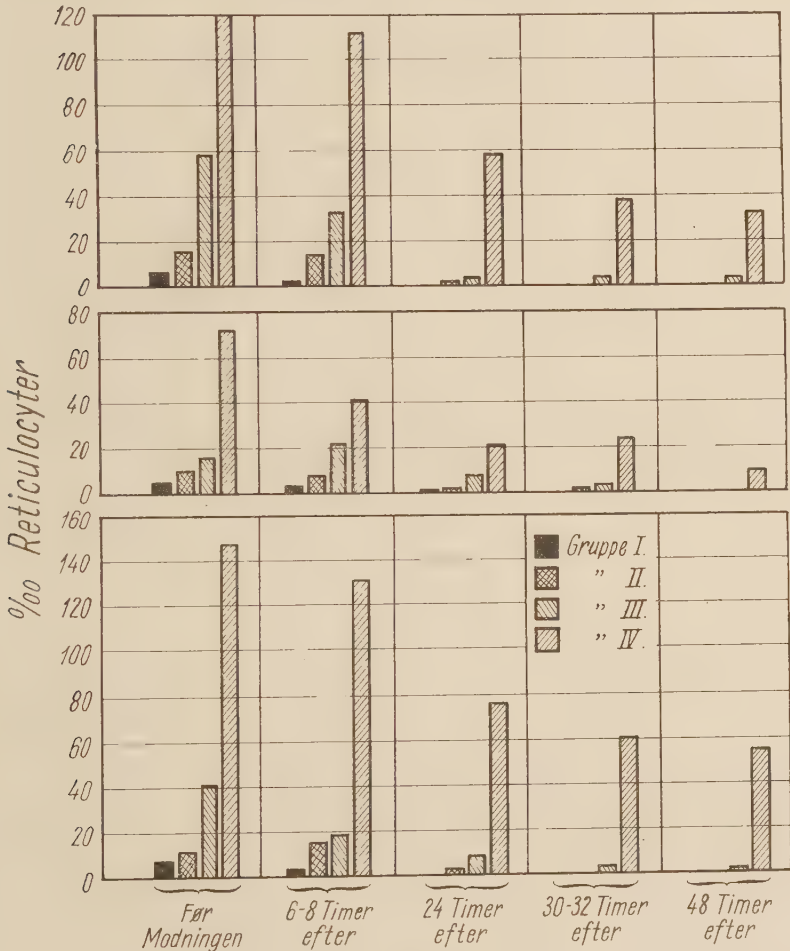


Fig. 2.

Variationerne i de forskellige reticulocytytgrupper i tre forskellige modningsforsøg. De yngste cellyper forsvinder først, og til sidst findes kun gruppe IV.

(Efter Heilmeyer & Westhäuser: Ztschr. f. klin. Med. 1932, 121, 361).

værdier for reticulocytmodningstiden paa 24—48 timer stemmer ganske overens med de af *Riddle* (1930) fundne Værdier i det cirkulerende blod.

Forskydningen i gruppernes indbyrdes forhold fremgaar tydeligt af Heilmeyer & Westhäuser's differentialtællinger og ses paa den skematiske fremstilling figur 2.

Alle disse undersøgelser synes at vise, at man maa regne med en levetid for reticulocyterne paa 2—4 dage, eller maaske bedre, at det tager 2—4 dage for cellerne at gennemløbe udviklingen fra celler med rigelig substantia granulo-filamentosa til celler helt uden denne substans.

Hvorvidt reticulocyterne udvikles til polychromatiske celler er et spørgsmaal, som ikke helt er klarlagt, men trods de delte meninger om dette spørgsmaal, er der meget, der tyder paa, at den polychromatiske celle er udviklet uafhængigt af reticulocytstadiet, idet der ikke findes nogen overensstemmelse mellem det udviklede antal reticulocyter og antallet af polychromatiske celler, ligesom celler med ringe mængde af substantia granulo-filamentosa ikke viser begyndende polychromasi, saaledes som man burde vente, saafremt den polychromatiske celle skulde være et led i udviklingsrækken fra erytroblast til erythrocyt over reticulocytstadiet.

Resumé:

Paa grundlag af substantia granulo-filamentosa's fordeling i reticulocyterne har adskillige undersogere, blandt andet *Heilmeyer* og *Trachtenberg* inddelt disse celler i forskellige aldersgrupper. En differentialtælling af disse grupper giver et indtryk af aldersfordelingen indenfor reticulocyterne. Derigen- nem faas et udtryk for erytropoesens hastighed, hvad der dog maa tages med et vist forbehold, idet tilstedeværelsen af mange yngre celler ikke altid betyder en forøget erytropoese. En differentialtælling af reticulocyterne i opbevaret blod viser, at der finder en regelbunden forskydning sted mellem de forskellige grupper, hvad der yderligere understreger opfattelsen af reticulocyterne som et naturligt gennemgangsstadium indenfor erythrocyternes udviklingsrække.

TREDIE KAPITEL

Reticulocyt-mængden i organismen.

At reticulocyterne ikke er »kunstprodukter«, men en celle-type der normalt forekommer i det cirkulerende blod, kan betragtes som almindelig anerkendt. Ved den almindelige kliniske undersøgelse betjener man sig saaledes i udstrakt grad af en bedømmelse af det relative antal af disse celler, et tal, der er af betydning ved bedømmelsen af forskellige patologiske forhold og under behandlingen for eksempel af den perniciøse anæmi.

Da reticulocyterne er at opfatte som et gennemgangsstadium i udviklingen af erythrocyterne, er det naturligt, at mange forskere har stillet sig følgende spørgsmaal: Er de reticulocyter, der findes i blodbanen, tilstrækkelig mange til at dække den normale erythrocytdestruktion? Er reticulocyterne et normalt gennemgangsled under erytropoesen? For at kunne besvare det første af disse spørgsmaal er det nødvendigt at vide følgende: Er alle celler, der forlader knoglemarven i besiddelse af substantia granulo-filamentosa? Hvor lang levetid har en celle som reticulocyt?

En gennemgang af de undersøgelser, der findes i litteraturen over antallet af reticulocyter i knoglemarven (sternalpunktur) viser hos mennesker, som det fremgaar af tabel 1, at der er ca. 2—4 gange saa mange reticulocyter i knoglemarven som i det cirkulerende blod. Ved bedømmelsen heraf maa det dog erindres, at der ved aspirationen tilblandes den udsugede knoglemarv en vis mængde blod af en ukendt størrelse, hvorved knoglemarven fortyndes. Paa grund af den rigelige vascularisering af knoglemarven er det vanskeligt at sige, hvor stor fortyndingen bliver, saaledes at talangivelserne fra knoglemar-

ven maa tages med forbehold. Man kan som helhed sige, at de tal, der angives fra knoglemarven, maa være mindre end i den »ublandede« marv.

	Blodbanen	Knoglemarven
Ungricht	0,5—1,2 %	1,35—4,00 %
Pokrowsky	0,2—0,5 %	0,8 —1,4 %
Tempka & Braun ..	0,2 %	0,8 %
Tøttermann	1,0 %	1—2 %
Rohr	1,0—1,5 %	1,5—2,0 %
Osgood	0,6—3,6 %	1,2—5,2 %
Forssell	0,22 %	0,88 %
Egne undersøgelser .	0,26 %	1,33 %

Tabel 1

viser forskellige forskeres angivelser af reticulocyt mængden i blodbanen og knoglemarven hos mennesker.

Istomanova (1926) har anstillet nogle undersøgelser paa kaniner, hvorved hun har paavist, at alle celler (erythroblaster + erythrocyter) i knoglemarven er forsynet med substantia granulo-filamentosa, og deraf slutter hun, at alle celler, der forlader knoglemarven, er reticulocyter.

Ved forgiftningsanæmier som for eksempel med fenylhydrazin er det lykkedes *Duesberg* (1931) at faa reticulocyt antallet i det perifere blod op til 100 %, og i dette tilfælde maa alle celler, der forlader knoglemarven, være forsynet med substantia granulo-filamentosa. Lignende forsøg paa kaniner (*Jacobsen, Plum & Milwertz*, 1940) med hydroxylamin gav en stigning af reticulocyt mængden i blodbanen til 30 % og en tilsvarende stigning i knoglemarvens reticulocyter til 58 %.

Under patologiske forhold hos mennesker har *Heilmeyer* (1932) fundet et meget stort antal reticulocyter — op til 85 % — i det perifere blod, og *Riddle* (1950) har vist, at ved pernicios anæmi under remission ved leverbehandling synes alle celler, der forlader knoglemarven, at være forsynet med substantia granulo-filamentosa.

Det fremgaar saaledes af disse undersøgelser, at mange mener, at samtlige celler, der forlader knoglemarven, er for-

synet med *substantia granulo-filamentosa*. *Heath & Daland* (1930) mener dog, at der under normale forhold finder en modning sted i knoglemarven, saaledes at cellerne udsendes i forskellige alderstrin. Herpaa tyder ogsaa de undersøgelser, der er udført med differentialtælling af disse, *Ungricht* (1938), *Forssell* (1939) og *Plum* (1941).

Med disse divergerende meninger om reticulocyternes forhold i knoglemarven in mente er det naturligt, at man stiller sig spørgsmaalet: Er knoglemarven i stand til at forsyne blodbanen med det antal reticulocyter, som svarer til den daglige erythrocytdestruktion? Dette spørgsmaals besvarelse er afhængigt af, hvorlænge reticulocyterne er om at udvikles, og om denne udvikling kan finde sted efter, at reticulocyterne har forladt knoglemarven.

Det sidste af disse spørgsmaal kan utvivlsomt besvares bekræftende. De udviklingstider, som er fundet ved bl. a. in vitro forsøg af forskellige undersøgere, fremgaar af tabel 2.

	Udviklingstid Timer
Pepper	72
Denecke	72
Riddle	72 (24—48)
Seyfarth	24
Heilmeyer & Westhäuser .	48
Gordon & Kleinberg	96—144
Heath & Daland	72—96

Tabel 2.
Reticulocyt-udviklingstider in vitro.

Opstiller man nu følgende beregning: et voksent menneske har ca. $5 \cdot 10^6$ erythrocyter/cmm; destruktionen af erythrocyter beregnet ud fra den daglige urobilinudskillelse er ca. $15 \cdot 10^4$ erythrocyter/cmm. Herudfra maa man regne med en gennemsnitslevetid for erythrocyterne paa 33 dage. Reticulocyt mængden hos et voksent menneske er ca. $4 \frac{0}{100}$, hvilket svarer til $2 \cdot 10^4$ /cmm. Ud fra *Heilmeyers & Westhäusers* angivelse er

udviklingstiden for reticulocyterne in vitro 48 timer, hvilket vil sige at der daglig udvikles $10^4/\text{ccm}$, hvad der svarer til 1% af den destruerede erythrocytmængde. Dette tyder enten paa, at knoglemarven ikke udsender udelukkende reticulocyter, men ogsaa en stor del celler, der er fuldt udviklede; eller at levetiden for reticulocyter er meget kortere in vivo hos mennesker, hvad den dog efter de foreliggende forsøg ikke synes at være.

Heilmeyer & Westhäuser (1932) mener imidlertid paa grundlag af de foreliggende undersøgelser, at der en nøje overensstemmelse mellem reticulocytdannelsen og erythrocytdestruktionen hos mennesker.

Deres beregninger er følgende: Hos mennesket findes $8 \cdot 10^{11}$ reticulocyter i blodbanen; *Riddle* har beregnet, at de ældre reticulocyter modnes paa 24 timer. Da reticulocytmængden er nogenlunde konstant, vil det sige, at der daglig fra knoglemarven udsendes reticulocyter, der svarer til $8 \cdot 10^{10}$, hvilket vil sige $2 \cdot 10^{11}$, naar der regnes med et erythrocyttal paa $25 \cdot 10^{12}$.

Ud fra mængden af hæmoglobin i blodet, som *Heilmeyer & Westhäuser* ansætter til 750 g, kommer de til det resultat, at der daglig fra knoglemarven udsendes 5 g hæmoglobin ($750 : 125 = 5!!$). Hvorledes svarer denne hæmoglobinmængde til den mængde urobilin, der udskilles, som følge af den daglige erythrocytdestruktion? Urobilinbestemmelser efter *Terwen* og *Heilmeyer* viser en daglig udskillelse gennem fæces og urin paa 150 mg. Da den jernholdige prostetiske gruppe = »Hæm« udgør ca. 4% af hæmoglobinkylet, saa svarer den udskilte urobilinmængde til 5,57 g hæmoglobin(!). Dette tal skal efter *Heilmeyer & Westhäuser* være minimum, idet de mener, at en del af urobilinet odelægges i tarmen af bakterier, og en del medgaar til dannelsen af andre nedbrydningsstoffer, f. ex. urinfarvestoffer, og endelig noget af den nedbrudte hæmoglobin skulde være med til nydannelsen af hæmoglobinet.

Ud fra disse betragtninger kommer *Heilmeyer & Westhäuser* som nævnt til den konklusion, at der er en god overensstemmelse mellem den nedbrudte erythrocytmængde og den fra knoglemarven udsendte reticulocytmængde. De anser det

udfra deres betragtninger for yderst usandsynligt, at der fra knoglemarven skulde udsendes fuldt udviklede erythrocyter.

Heilmeyer & Westhäusers antagelse afviger væsentligt fra den forannævnte, hvor man finder, at kun $\frac{1}{15}$ af de fra knoglemarven udsendte blodlegemer er reticulocyter. Dette maa tilskrives, at *Heilmeyer & Westhäuser* regner med $8\frac{0}{100}$ reticulocyter i modsætning til $4\frac{0}{100}$, at de regner med en større mængde blod, idet man udfra deres angivelse af 750 g hæmoglobin maa regne med 5,3 liter blod; erythrocytdestruktionen er 3—4 gange saa lille beregnet udfra urobilinudskillelsen; og endelig er der nogen unøjagtighed i talbehandlingen, saaledes at man, dersom man tager alle disse forhold i betragtning, ikke vil faa slet saa god en overensstemmelse som disse forskere.

Resumé:

Paa grundlag af tidligere foretagne undersøgelser over reticulocyternes udviklingstid har man anstillet nogle betragtninger over, hvorvidt alle celler fra det erytropoetiske system forlader knoglemarven indeholdende substantia granulofilamentosa. Man maa udfra det daglige henfald af erythrocyter, beregnet udfra urobilinudskillelsen, sige, at den mængde, der findes i blodbanen af reticulocyter, kun er i stand til at dække ca. 6 %, hvoraf man maa slutte, at størstedelen af cellerne forlader knoglemarven som fuldt udviklede erythrocyter.

ANDET AFSNIT

Da reticulocyterne er celler i udvikling, er det naturligt at undersøge, hvilke betingelser de stiller til deres omgivelser for at de kan udvikles til erythrocyter.

Mange forsøg med dyrkning af disse celler er anstillet, men kun udfra den betragtning, at man vilde undersøge, hvorlænge reticulocyterne var om at udvikle sig, uden at man egentlig har interesseret sig for, hvad de krævede for at kunne udvikles. I det her foreliggende arbejde har man lagt vægten paa at undersøge, hvilke faktorer, der er af betydning for disse cellers udvikling.

For at kunne danne sig et skøn over dette, er det nødvendigt at have et godt og ensartet reticulocytmateriale, og her-til har man anvendt kaninblodlegemer. Mængden af reticulocyter er hos det normale dyr ikke overvældende stor, men dersom dyret udsættes for store blodtab eller destruktions af blodlegemerne forøges, lader reticulocytmængden sig let forøge til det 10-dobbelte. Naar man gerne vil have et stort antal reticulocyter i det blod, der skal anvendes til forsøgene, skyldes det, som der senere skal gøres rede for, at man derved faar en større nøjagtighed ved bestemmelsen af disse celler.

Inden de egentlige forsøgsresultater omtales, skal der derfor gøres rede for:

- 1) Fremkaldelse af reticulocytose hos forsøgsdyrene.
- 2) Bestemmelse af reticulocytmængden.
- 3) Den til modningsforsøgene anvendte metodik.

FJERDE KAPITEL

Experimental reticulocytose fremkaldt ved aareladning.

Det er velkendt, at man ved daglig aareladning af kaniner opnaar en veludtalt anæmi, og samtidig med anæmiens opstaaen kommer der en betydelig reticulocytose. Man opnaar med lethed en stigning i reticulocytværdien til mere end det ti-dobbelte af det normale, uden at der optræder andre umodne celleformer i det cirkulerende blod end reticulocyter.

Da der i det foreliggende arbejde dagligt anvendes store mængder blod til undersøgelserne (se senere), har man valgt denne metode til at frembringe reticulocytosen paa, fremfor de talrige andre metoder, som tidligere er anvendt, saasom fenyldiazin, hydroxylamin intravenøst, kongorødt intra-peritonealt o. s. v.

Blandt de metoder, der i litteraturen er foreslaaet, er to vel-egnede til paa een gang at give reticulocytose og store blodmængder til forsogsbrug, nemlig den af Sjøvall (1936) angivne, hvor der tages oreblod, og den almindelige hjertepunktur, der er meget simpel og hurtig. Hjertepunkturen gør det muligt uden særlig vanskelighed at udtomme 40—50 ccm blod daglig, hvilket maa siges at være maximum af hvad man kan tillade sig at tage paa een gang; thi regner man med, at dyrets vægt er 2,5 kg, hvad der var tilfældet med de til de her anførte forsøg brugte kaniner, vil dette svare til en blodmængde paa 125 ccm, saaledes at mere end 50 ccm vil være for stor en udtømning, og nemt forårsage dyrets død.

En enkelt hjertepunktur giver, som det tidligere er vist, Gordon (1933), en stigning af reticulocyternes antal i løbet af de første dage efter indgrebet, hvorefter mængden langsomt aftager til normale værdier. Ved gentagne hjertepunkture ses

en hurtig stigning af reticulocyt-mængden til et »maximum«, hvorom værdierne svinger, ligesom hæmoglobinprocenten og erythrocytmængden svinger om et »minimum«, se fig. 30 og 31; ved længere tids anæmisering ses ofte et præmortelt fald i erythrocytmængden og hæmoglobinprocenten ledsaget af ændringer i reticulocyt-tallet. Denne forandring er kun kortvarig, idet dyret hurtigt dør. En section af saadanne dyr viser som oftest en aplastisk knoglemarv.

Ved ophør af punkturene ses en stigning i reticulocyt-mængden med en efterfølgende stigning af hæmoglobinprocent og erythrocytmængden; efter 3 ugers forløb er dyret saa godt som restitueret, *Gordon* (1933) og *Schwarz* (1940).

Naar man i det her foreliggende arbejde fortrinsvis har anvendt hjertepunkturen fremfor *Sjøvall's* metode skyldes det, at man først, da man var i gang med undersøgelserne, blev bekendt med denne metode, som i simpelhed overgaar hjertepunkturen, hvorefter man straks gik over til anvendelsen af *Sjøvall's* metodik til de fortsatte undersøgelser. Hvor intet er nævnt er forsøgene foretaget paa blod, som man har vundet ved hjertepunktur. Mortaliteten ved *Sjøvall's* metode er betydelig mindre, idet ingen dyr dør under indgrebet, og dyrene taaler bedre denne langsommere udtømmning; dog kan det fremhæves, at man en enkelt gang har set, at et dyr døde umiddelbart efter første blodtagning. Ved sektionen viste det sig, at der var fremkommet en kraftig intracranial blødning.

Hjertepunkturen

foretages med kaninen anbragt i rygleje. Med en grov vene-sleben kanyle, der er 6—7 cm lang, og har en udvendig diameter paa 2 mm, armeret paa en 50 ccm recordsprøjte indeholdende 10 ccm 3,8 % Natriumcitratopløsning, gennemborer man thoraxvæggen svarende til venstre ventrikel, d. v. s. ca. 1½ cm fra spidsen af processus ensiformis, ½ cm fra venstre sternalrand, hvorefter man langsomt suger med sprøjten. Det mærkes let, naar man gaar gennem hjertevæggen, idet man dels føler en svag modstand, dels naar man holder sprøjten



Fig. 3.
Blodtagning ved hjertepunktur.

løst i haanden, mærker hjerteaktionen tydeligt. Da hjertet er relativt lille i forhold til dyrets størrelse, er det temmelig vanskeligt at angive, hvor dybt man skal gaa ind med kanylen i thoraxrummet, men som helhed maa det siges, at man aldrig skal gaa mere end 2 cm i dybden, idet en dobbeltperforation af hjertet giver blodning i pericardiet, hjertetampnade og derved dyrets død.

Hos dyr, der vejer mindre end 2,5 kg, er hjertet beliggende noget højere end ovenfor angivet og mere svarende til midterplanet, hvorfor man her staar sig ved at foretage hjertepunkturen klods paa sternalranden ca. $3-3\frac{1}{2}$ cm fra spidsen af processus ensiformis.

Drejer det sig om en enkelt hjertepunktur, er det nemmest at foretage denne med dyret i dyb narkose, men hvor det drejer sig om daglige punkturer, som i dette arbejde, viste det sig, at den daglige narkose nedsatte dyrets modstandskraft, og i løbet af faa dage døde dyret. Sektionen viste en dobbeltsidig pneumoni. Da indgrebet let lod sig foretage uden



Fig. 4.
Blodtagning a. m. Sjøvall.

narkose, undlod man denne, efter at de ovennævnte iagttagelser var gjort.

Ved de talrige hjertepunkturer man har foretaget, har man aldrig set nogen abscesdannelse svarende til punkturstedet, trods det, at der ikke var foretaget nogen rasering af haarbeklædningen, ligesaa lidt som man foretog nogen særlig afvaskning svarende til punkturstedet.

Hvorlænge kan dyret taale denne hjertepunktur?

I løbet af en maaned vil dyret som regel dø med alle tegn paa en aplastisk anæmi; i nogle tilfælde har vi haft forsøgsdyr, der har levet længere, men disse har alle faaet kraftige oedemer, saaledes at vi har maattet aflive dem. Ved en sektion af saadanne dyr, kunne man finde op til 1 liter vædske i abdominalhulen og et par hundrede ccm vædske i thoraxrummet, hvor lungerne fandtes mere eller mindre atelektasiske. Oedemdannelsen maa tilskrives den ved aareladningen opstaaede hypoproteinæmi, men vel ogsaa for en stor del lidelser i cor, idet man aldrig har set oedemdannelser hos dyr

aareladt ad modum *Sjøvall*, selv efter 3—4 maaneders aareladning.

Hos alle de dyr, der blev anæmiseret ved hjertepunktur, fandt man efter 8 dages forløb tydelige bindevævsdegenerationer i leveren.

Hos nogle dyr, der havde faaet foretaget hjertepunktur i over en maaned, fandtes der ved sektion umiddelbart efter dyrets død foruden de ovenfor nævnte forhold tillige det, at ventriklen svarende til pyloruspartiet og den tilstødende del af corpus ventriculi bristede spontant ved sektionen. Ventrikelslimhinden var her silkepapirstynd.

Som tidligere nævnt er man senere gaaet over til at tage blodet fra den mediale ørevene med det af *Sjøvall* (1936) angivne apparat. En metodik, der paa alle omraader frembyder fordele: Let at udføre, dyrene taaler bedre aareladningen gennem lang tid. Man ser aldrig oedemdannelser eller leverbeskadigelser; der optræder dog undtagelsesvis lipæmi, men først efter lang tids behandling.

Resumé:

Der er i nærværende arbejde anvendt blod fra kaniner, der er anæmiseret med aareladning enten ved daglige hjertepunkturer eller ad modum *Sjøvall*. Denne sidste metode er den hurtigste, og dyrene taaler bedre aareladning paa denne maade end ved hjertepunktur.

FEMTE KAPITEL

Bestemmelse af reticulocyt-mængden.

Farvning og tælling af reticulocyter.

Reticulocyterne er som tidligere nævnt bl. a. karakteriseret ved deres vitalfarvelighed. Denne betegnelse er mindre korrekt, og mange forfattere er da ogsaa gaaet over til at bruge betegnelsen supravitalfarvning i modsætning til intravitalfarvning.

Den væsentligste forskel mellem de 2 farvemetoder er fremhævet af Cappell (1928), der kræver, at et farvestof for at kunne virke supravitalfarvende maa virke meget hurtigt inden for faa minutter; medens man ved den intravitale farvning kan anvende farvestoffer, der kan være flere timer om at farve de paagældende væv eller celler.

De farvestoffer, der udmærker sig ved at farve cellerne hurtigt, og som altsaa kan anvendes til supravitalfarvning af *substantia granulo-filamentosa*, er blandt andre de basiske anilinfarvestoffer: Neutralrødt, metylenblaat, toluidinblaat, azur I og II, Janus grønt B, brilliantkresylblaat o. s. v. Seyfarth (1927).

Erythrocyterne farves kun diffust, saaledes at en efterfarvning ikke er absolut nødvendig for at man kan tælle reticulocyterne; men man vil ofte, naar det drejer sig om en nøjere uddifferentiering foretage en efterfarvning a. m. Wright eller May-Grünwald-Giemsa.

De sure anilinfarvestoffer kan ogsaa anvendes til supravitalfarvning, men da de kun farver de eosinofile granula, Israel & Pappenheim (1892), Arnold (1896), Rosin & Bibergeil (1904), Cesaris-Demel (1907), kommer de ikke paa tale til farvning af reticulocyternes *substantia granulo-filamentosa*.

De forskellige farvestoffers virkning er dels afhængige af farvetiden, dels af farveopløsningens styrke, men for dem alle gælder det, at cellernes farvestyrke er ligefrem proportional med koncentrationen af farvestofopløsningen. Det gælder altså om at finde en passende koncentration, hvor man faar alle enkeltheder med, uden at man derfor faar overfarvede præparater.

En nøjere gennemgang af de forskellige farvestoffers fordele og mangler vil ligge udenfor dette arbejdes rammer, hvorfor man kun nærmere skal omtale den her anvendte farve, nemlig brilliantkresylblaat, selvom man ogsaa har prøvet nogle af de andre farver saasom Janus grønt B, nilblaatsulfat og metylenblaat. Ingen af disse farver har imidlertid givet resultater, der sammenlignet med brilliantkresylblaat var tilfredsstillende. Den kontrast, der fremkommer ved brilliantkresylblaatfarvningen overgaar alle de andre, idet selv den mindste antydning af *substantia granulo-filamentosa* synes at farves. Man regner derfor med, at man ved anvendelsen af denne farve faar den største del af reticulocyterne med, og derved faar den største procentiske nøjagtighed i bestemmelserne.

Brilliantkresylblaat.

Brilliantkresylblaat, *Israel & Pappenheim* (1892), *Levaditi* (1901), *Cesaris-Demel* (1907), *Hawes* (1909), *Key* (1921), *Seyfarth* (1927), *Brookfield* (1928), *Davidson* (1930), *Kitajima* (1930), *Nittis* (1930), *Naegeli* (1931), *Dawson* (1933), *Unger* (1933), er den farve, der foretrækkes af alle forskere, der har beskæftiget sig med reticulocytundersøgelser; dels paa grund af den hurtighed, hvormed den farver reticulocyterne, dels fordi den som nævnt farver *substantia granulo-filamentosa* effektivt og samtidigt meget intenst.

De forste, der brugte brilliantkresylblaat, var *Israel & Pappenheim* (1892). De tilsatte blot nogle krystaller af farvestoffet til bloddraaben, hvorefter de paa almindelig vis lavede udstrykningspræparater, hvori de med lethed kunde skelne reticulocyterne. *Levaditi* (1901), der ofte fejlagtigt nævnes som

indføreren af brilliantkresylblaat til reticulocytfarvning, beskriver indgaaende sine resultater med denne farve, og disse arbejder er saa omhyggelige, at de har faaet næsten alle forskere siden til at anvende brilliantkresylblaat fremfor de andre basiske anilinfarvestoffer. *Seyfarth* (1927) skriver meget træffende om denne farvemethode: »Brilliantkresylblau ist der reinste und indifferenteste Vitalfarbstoff, und nur er wirkt ausserordentlich schnell — in — Sekunden — auf die vital-färbbare Substanzen ein.«

Key (1921) og *Davidson* (1930) har med denne farve ligesom med azur II, set metachromatiske granula.

Brilliantkresylblaat farver foruden granula ogsaa hele netstrukturen i cellen, hvad der yderligere er et gode. Denne sidste egenskab har nilblaatsulfat og krystalviolet ogsaa, men tydeligst ses netstrukturen med krystalviolet, der imidlertid har en farvetid paa ca. 15 minutter, hvorfor der ofte indtræder forandringer i cellerne, hvad der kan kompromittere celtællingen.

Da det vil være af stor betydning at kunne farve reticulocyterne *in vivo*, for derigennem at faa et begreb om deres levetid i organismen, har *Dawson* (1933) prøvet at injicere brilliantkresylblaat intraperitonæalt paa halepadder, men disse forsøg gav ikke videre tilfredsstillende resultater, idet smaa mængder injiceret ingen farvning gav, fordi stoffet reduceres i organismen, og store mængder gav toksiske fænomener ofte med dødelig udgang.

Ved de i dette arbejde foretagne undersøgelser er det ligeledes forsøgt at injicere brilliantkresylblaat, dog ikke paa halepadder, men paa hvide rotter. Der injiceredes 5 ccm 1 % brilliantkresylblaat opløst i 0,9 % NaCl intravenøst (v. femoralis), men dyret døde straks efter injektionen; farvestoffet var dog allerede paa dette tidspunkt trængt ud i saa godt som alle væv, men der fandtes ingen vitalfarvede erythrocyter i blodbanen. Injektion af mindre mængder, som for eksempel 1½ ccm, taalte dyret; men efter et par dages forløb døde det under respirationsbesvær; alle organerne var let blaalige, men der fandtes ingen sikre vitalfarvede erythrocyter i det cirkulerende blod.

Det lykkedes saaledes ikke at faa reticulocyterne farvet intravitalt til bestemmelse af deres levetid i organismen, idet brilliantkresylblaat virkede toksisk i organismen i store mængder, og de smaa mængder destrueredes temmelig hurtigt.

Den anvendte farvestofopløsnings koncentration.

Spørgsmaalet om den for farvning af reticulocyter optimale styrke af brilliantkresylblaat er vanskeligt at besvare. I nærværende arbejde er anvendt den af *Brookfield* (1928), *Larsen & Skadhauge* (1941) foreslaaede opløsning af 0,15 % brilli-
antkresylblaat i 0,9 % NaCl. Heraf tages ca. $\frac{1}{2}$ ccm til 2—3 draaber blod.

Tidligere undersøgere har anvendt meget forskellige koncentrationer, saaledes angiver *Osgood & Wilhelm* (1931) og *Wintrobe & Schumacher* (1936), at farvestofkoncentrationen efter tilsætning af blodet maa variere fra $\frac{1}{2}$ —1 %, hvilket er væsentligt stærkere end den her anvendte koncentration; *Friedländer & Wiedemer* (1929), *Krumbhaar* (1930), *Whitby & Britton* (1933), *Hirschfeld & Moldowsky* (1933), *Heilmeyer & Oortgiese* (1934), angiver værdier for koncentrationen paa 0,2—0,4 %. *Kämmerer* (1932), der noje har undersøgt de forskellige koncentrationers farveevne, meddeler, at koncentrationer paa mindre end 0,1 % farver reticulocyterne tydeligt og kontrastrigt, naar blot farven faar lang tid nok til at virke.

Farvetidens længde.

Hvor længe den tilsatte blodmængde skal henstaa i farvevædsken, førend man kan regne med, at alt er gennemfarvet, afhænger i høj grad af den anvendte koncentration af farvestoffet.

Osgood & Wilhelm (1931), der som nævnt anvender en stærk koncentration, finder en optimal farvetid paa ca. 1 minut; *Kämmerer* (1932), *Hirschfeld & Moldowsky* (1933), *Heilmeyer & Oortgiese* (1934) mener, at det er nødvendigt at lade prøven henstaa 30—40 minutter; *Brookfield* (1928) ca. 20 minutter; *Friedländer & Wiedemer* (1929), *Krumbhaar*

(1930) og Kato (1932) mener, at en farvetid paa 10—15 minutter er tilstrækkelig, og at man derved undgaar de forandringer, der skyldes farvestoffets indvirken paa cellerne gennem længere tid.

Holbøll (1929), Whitby & Britton (1933) mener, at der opnaas fuldstændig gennemfarvning i løbet af 30 sekunder, heri er Kitajima (1930) enig med dem, idet han mener, at man kan nøjes med en farvetid paa 20 sekunder. Men hvis man ned-sætter farvetiden yderligere, opnaas der ikke total gennemfarvning af cellerne, og de vil da i præparaterne vise sig som polychromatiske celler.

Man har i det nærværende arbejde holdt sig til den af Brookfield (1928) foreslaaede tid, nemlig 20 minutter, og man har sørget for, at farven ikke kom til at indvirke paa cellerne mere end højst 60 minutter.

Farvningen af reticulocyterne.

Farvningen af reticulocyterne kan ske paa forskellig maade afhængig af, om man ønsker at tælle i fugtige eller tørre præparater.

Som nævnt anvendte Levaditi (1901) til farvningen blot nogle faa krystaller af farven, som han tilsatte blodet inden udstrygningen, senere er man gaaet over til at præparere objectglassene med et par draaber alkoholisk farveopløsning, (0,5 % brilliantkresylblaat i 96 % alkohol), som man lader tørre ind, før blodet udstryges, Cesaris-Demel (1907), Schilling (1911) (1933), Cunningham (1920), Davidson (1930), Fiessinger & Laur (1930), Kitajima (1930), Nittis (1930), Hall (1931), Trachtenberg (1932), Ungricht (1938), Forssell (1939).

De fleste undersøgere anvender dog helst farvestoffet opløst i en isotonisk natriumkloridopløsning, Robertson (1917), Alport (1928), Brookfield (1928), Holbøll (1929), Davidson (1930), Krumbhaar (1930), Heilmeyer (1931), Kato (1932), Dawson (1933), Hirschfeld & Moldowsky (1933), Kämmerer (1933), Wintrobe & Schumacher (1936), Larsen & Skadhauge (1941).

For at opnaa bedst mulige resultater har jeg foretaget tællingerne i fugtigt præparat, da det efter den foreliggende litteratur om fejl ved tælling af reticulocyter, *Marcussen* (1938), synes at være den nøjagtigste og nemmeste metode, idet dækglaspræparater, der giver ligesaa nøjagtige præparater, er vanskelige at fremstille. I adskillige tilfælde er der samtidigt lavet udstrygningspræparater af det opbevarede blod paa objectglas behandlet med 0,5 % brilliantkresylblaat i 96 % alkohol, saaledes at man fik torpræparater til differentialtælling af reticulocyterne (se senere). Disse præparater, der kan efterfarves med *May-Grünwald-Giemsa's* farveoplosninger, letter i høj grad differentialtællingen.

Larsen & Skadhauge (1941) mener, at en efterfarvning ikke giver nøjagtige resultater, idet de har vist, at medens der i et præparat, talt efter den »fugtige« metode, fandtes 97 " ... reticulocyter, fandtes der efter en fiksering i metylalkohol i 3 minutter kun 5 $\frac{0}{100}$. En saadan affarvning med metylalkohol har blandt andre ogsaa *Seyfarth* (1927) iagttaget, ligesom man under udarbejdelsen af dette arbejde har set denne affarvning. Ved en efterfølgende farvning med *Giemsa's* farvevædske finder *Larsen & Skadhauge* (1941) nu 14 " ..., medens de ved efterfarvning med *Leishmann's* farvevædske finder 74 " ... *Seyfarth* (1927) og *Ederle* (1933) har ligeledes vist, at man ved efterfarvning med *Giemsa's* farvevædske finder lavere værdier end ved tællinger foretaget i fugtige præparater. *Ederle* (1933) mener, at dette forhold skyldes, at der i den anvendte farvevædske ikke findes tilstrækkelig store koncentrationer af de basiske farvestoffer til at farve alle reticulocyterne, idet de sure farvestofkomponenter i den almindelige *Giemsa's* farvevædske hindrer de basiske komponenters fulde virkekraft. *Ederle* (1933) prøvede saa at efterfarve med lige dele *Giemsa's* farvevædske og *Löffler's* metylenblaatoplosning; de resultater han derved opnaaede, var overensstemmende med tallene fra de kun vitalfarvede præparater, idet de ikke devierede mere end det er tilladeligt efter almindelig fejlberægning.

I dette arbejde er der til efterfarvning anvendt den kombinerede *May-Grünwald-Giemsa* farvning, og man har ikke

fundet afvigelser (se Tabel 4), der kan sammenlignes med de variationer; *Larsen & Skadhauge* (1941) finder ved anvendelsen af *Giemsa's* farvemethode. Afvigelserne ligger her ligesom ved *Ederle's* undersøgelser (1933) indenfor den almindelige spredning, som man finder ved tælling i tørpræparater, jævnfør den af *Marcussen* (1938) foretagne beregning.

Bestemmelsen af reticulocyt mængden.

Reticulocyt tælling er en velkendt klinisk undersøgelsesmethode, men erfaringen viste nødvendigheden af en meget omhyggelig teknik, hvorfor den anvendte metodik nøje skal gennemgaaes.

Til farvning af substantia granulo-filamentosa anvendes som tidligere nævnt brilliantkresylblaatopløsning: 0,15 g brilliantkresylblaat i 100 ccm 0,9 % NaCl; denne opløsning tilaves i mindre portioner af hensyn til eventuelle forandringer i farvestoffet, *Cohen & Preissler* (1930), og farvestofopløsningen filtreres daglig før brugen.

I dværgreagensglas, hvori der er et par glaskugler (3 mm i diameter) afpipetteres ca. 0,5 ccm farveopløsning, hertil sættes 2—3 draaber af blodprøven, og der blandes omhyggeligt. Glassene henstaar i 20 minutter, hvorefter de vendes roligt og ihærdigt i 1 minut (Stopur).

Til tælling anvendes en draabe af blod-farveblandingen anbragt paa et objectglas, hvorover der lægges et dækglas (18×18 mm). Draabens størrelse skal være saa stor, at der er blod-farveblanding under hele dækglasset. Paa dækglasset anbringes en draabe immersionsolie. Man begynder først at tælle, naar blodlegemerne er faldet til ro.

Der tælles 2×500 erythrocyter ved hver bestemmelse. Til tællingerne anvendes binoculært mikroskop med forstørrelsen: $90 \times 17 \times 1,5 = 2300$ gange.

Angaaende fejlen ved disse bestemmelser henvises til *Marcussens* arbejde (1938) over fordelingen af reticulocyter.

Som eksempel paa, hvorfor man kun har arbejdet med kani-
ner med veludtalt reticulocytose, kan anføres følgende:

1) Tælling paa sædvanlig maade gav resultatet: 77—71 500, gennemsnit $74\,500 = 148 \text{ ‰}$; samme præparat talt ti gange gav følgende resultater:

72, 77, 71, 77, 70, 79, 74, 75, 73, 76, gennemsnit $74,4 \pm 2,76$, beregnet efter formlen $m = \sqrt{\frac{\sum p^2}{n}}$, hvor p er afvigelsen fra middeltallet og n er antallet af tællinger.

2) Tælling paa sædvanlig vis gav resultatet: 103—96 500, gennemsnit: $99,5\,500 = 189 \text{ ‰}$. Samme præparat gav talt ti gange følgende resultat: 102, 97, 98, 96, 93, 104, 102, 95, 99, 96, gennemsnit: $98,2 \pm 3,25$.

3) Tælling paa sædvanlig vis gav resultatet 8—13, gennemsnit $10,5 = 21 \text{ ‰}$. Ti tællinger gav: 9, 11, 14, 12, 8, 9, 9, 10, 8, 13, gennemsnit: $10,3 \pm 2,21$.

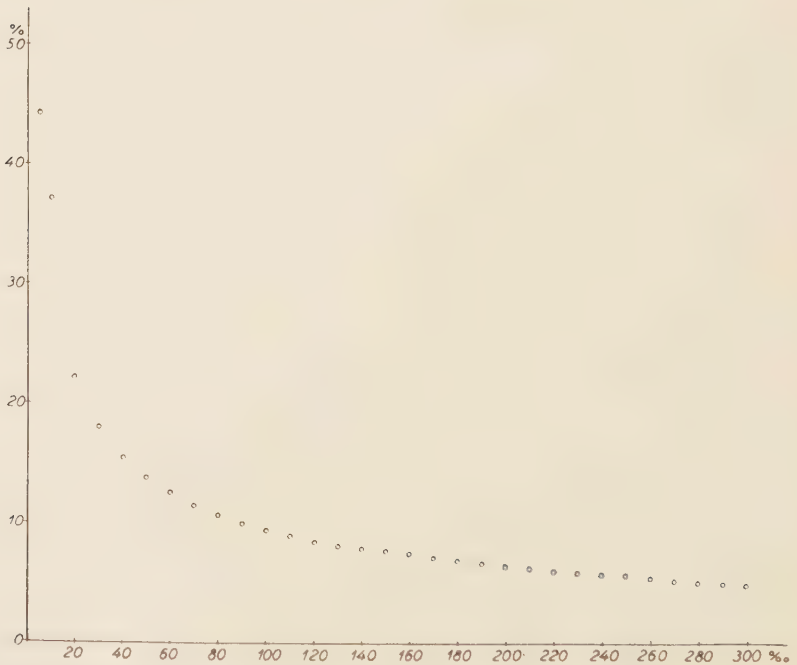


Fig. 5.

Den procentiske fejl ved reticulocyttbestemmelse, beregnet udfra reticulocytmængden.

Ordinat: Procentisk fejl. Abscisse: Reticulocytmængden i promille.

Disse tre eksempler viser, at medens der med den høje reticulocytprocent kun er tale om smaa variationer ca. 4 %, saa er der ved de smaa reticulocytprocenter en betydelig større variation, nemlig 20 %. Undersøger man den teoretisk mindste procentiske fejl ved hjælp af den af *Bernoulli* angivne formel, idet reticulocytællingen betragtes som en differentialetælling, ser man, som det fremgaar af kurven fig. 5, at man skal anvende høje reticulocyt-mængder for at faa saa lille en fejl som muligt. Dette har bevirket, at man i dette arbejde ikke har anstillet forsøg med normalt blod, d. v. s. blod med ringe indhold af reticulocyter, men kun har valgt dyr med udtalt reticulocytose.

SJETTE KAPITEL

Forsøgsteknik.

Behandling af forsøgsdyrene.

Til forsøgene anvendtes udelukkende han-kaniner, idet det viste sig, at hun-kaniner daarligt taaler hjertepunkturen, og, dersom de overlever denne, dør i løbet af faa dage, inden de har naaet at faa den ønskede veludtalte reticulocytose.

Dyrenes vægt var 2000—2500 g, idet mindre dyr taalte hjertepunkturen daarligt, og som regel døde i umiddelbar tilslutning til første punktur.

Dyrene holdtes saa vidt muligt paa samme kost under forsøgene, idet de blev fodret med kaalblade eller roer plus et tilskud af hø; i en periode, hvor det kneb med at fremskaffe kaalblade og roer, bestod kosten hovedsageligt af hø, og man var da nødsaget til at give dyrene et tilskud af vand.

Under forsøgene gik dyrene i enkeltbure, hvis bund var dækket med et lag savsmuld og hovlspaaner, saaledes at de gik tort, da det viste sig, at dyrene var meget modtagelige for infectioner og kulde.

Modningsforsøg.

Efter en uges daglig aareladning med udtomning af 50—50 ccm blod viste undersøgelserne af blodbilledet, at kaninen nu havde faaet en reticulocytose med en reticulocytpromille paa 100 eller derover. Det var det væsentligste krav, der blev stillet til forsøgsdyrene, idet det var en selvfølge, at det kun var sunde dyr, der blev taget i forsøg, og at deres blodbillede ved forsøgenes begyndelse var normalt.

Gennem hele forperioden (d. v. s. den uge, der medgik til at frembringe den experimentelle reticulocytose), blev dyrene daglig kontrolleret m. h. t. hæmoglobinprocent, erythrocyt- og reticulocyt-mængde. Efter forperioden blev disse undersøgelser kun foretaget paa de dage, hvor dyret var i forsøg, medens hjertepunkturen blev foretaget dagligt.

Forsøgsmetodik: Straks efter aareladningen, der blev foretaget paa den side 37 beskrevne maade, blev blodprøven omhyggeligt blandet i et vidt cylinderglas, dels for at undgaa koagulation, dels for at opnaa en ensartet blanding af blodlegemerne. Naar denne blanding var foretaget, afpipetteredes $2\frac{1}{2}$ ccm blod i rundbundede centrifugeglas (Rumfang: 10 ccm), hvori der var 2—3 glaskugler (diameter: 3 mm). Derefter centrifugeredes glassene i 5 minutter i en centrifuge med en omdrejningshastighed af 3—4000/minuttet. Efter endt centrifugering afsugedes plasmasøjlen, f. ex. med en recordsprøjte. Herefter tilsatte man til blodlegemerne 5 ccm fysiologisk kog-saltopløsning, og blandede prøven omhyggeligt i 1 minut (stopur), d. v. s. til blandingen var blevet homogen. Derefter centrifugeredes atter 5 minutter, hvorefter saltvandet afsugedes. Til disse vaskede blodlegemer sættes nu de opløsninger, hvis indvirken paa reticulocytmodningen man vilde undersøge. Opløsningerne tilsættes i samme mængde som den først afsugede plasmamængde, hvorefter man paany foretog en opblanding.

Efter endt blanding deltes »blodprøverne« fra hvert glas i fire dværgreagensglas, hvori der var anbragt 2—3 glaskugler (diameter: 3 mm), og glassene lukkedes med gummiproppe. Man fik saaledes for hver prøve 4 glas (1, 2, 3 og 4), der i den anvendte forsøgsopstilling repræsenterede forsøgstiderne 0, 2, 4 og 6 timer.

Umiddelbart efter afpipetteringen af prøverne i dværgreagensglassene anbragtes glas 2, 3 og 4 i rotationsapparatet (35 omdrejninger i minuttet) i vandbadet, der under de fleste af de her anførte forsøg holdtes konstant paa 40° Celsius. Glas 1 anbragtes i rotationsapparatet ved stuetemperatur, og efter nogen tids rotation bestemtes reticulocyt-mængden heri paa den side 47 beskrevne maade.

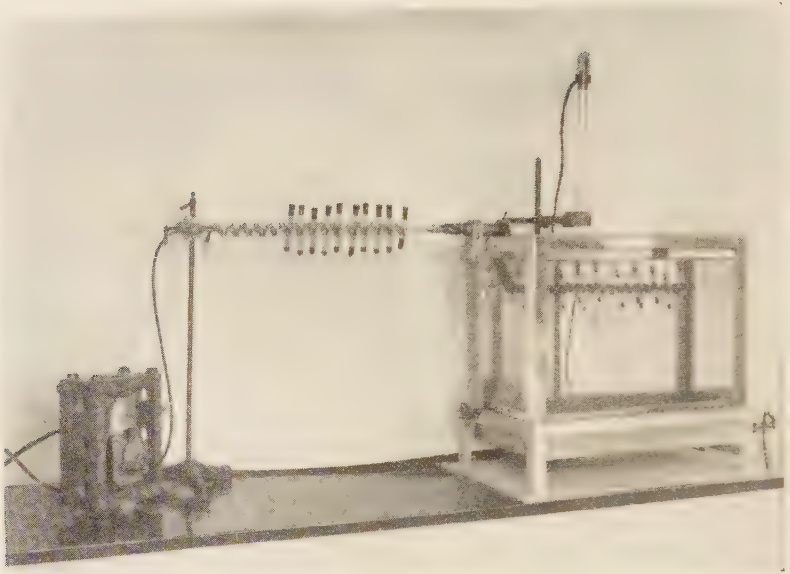


Fig. 6.

Vandbadet med rotationsapparaterne, saavel det der er anbragt i vandbadet, som det der er beregnet til omrystning af blodproverne med farvestofferne.

Efter to timer tages glas 2 op af vandbadet, og reticulocyt-mængden bestemmes heri, efter fire timer tages glas 3 o. s. v.

Af hensyn til den senere beregning har man valgt at bestemme alle værdierne for tiden 0, for at sikre sig, at opblandingen ved begyndelsen af forsøget har været effektiv, og at opblandingen efter centrifugeringerne ligeledes har været effektiv. Dette kan maaske synes overflodigt, men erfaringen viste, at der undertiden optraadte store variationer fra glas til glas. Denne uregelmæssige fordeling tilskrev man mangelfuld opblanding af blodproven, dels straks efter blodtagningen, dels og ikke mindst opblanding efter centrifugeringerne, idet reticulocyterne, som blandt andet vist af Morawitz og Komiya, har en mindre vægtfylde end erythrocyterne, og derfor vil samle sig i det øverste lag af centrifugeglasset.

Af hensyn til eventuelt indtrædende hæmolyse blev der gennem en række forsøg foretaget bestemmelser af erythrocyt-

mængden under forsøgsperioden, men der fandtes ingen forandringer (tabel 10) udover de forandringer, der sker ved henstand af blod stabiliseret med natriumcitrat. I blod stabiliseret med oxalat eller citrat finder der (*Plum*, 1939) et svind af erythrocyterne sted, som efter 5 timers forløb naar ca. 12 % (9,60—15,98 %). De omtalte forandringer kan maaske bero paa agglutination, da hæmolyse ikke blev iagttaget ved de nævnte undersøgelser.

Ved senere undersøgelser har man gentaget disse bestemmelser, men stadig ikke fundet afvigende værdier, medmindre plasmaet samtidigt var hæmoglobinfarvet, som følge af en indtraadt hæmolyse, og her fandt man et tydeligt svind af erythrocyterne.

Som eksempel paa den anvendte forsøgsopstilling skal man nu gennemgaa et enkelt forsøg.

Kl. 9 udtømtes ved hjertepunktur 40 ccm blod paa forsøgs-kaninen. Denne havde gennem 8 dage været aareladt, og havde nu en reticulocytmængde paa 185 $\frac{0}{100}$.

De 40 ccm blod, der var blandet med 10 ccm natriumcitrat (3,8 %) udtømtes i et lavt cylinderglas, hvor prøven blandedes omhyggeligt. Med en recordsprøjte (5 ccm) fyldtes nu 2½ ccm »citratblod« i 3 rundbundede centrifugeglas, hvorefter der centrifugeredes i 5 minutter.

Efter endt centrifugering afsugedes plasmaet ved hjælp af en recordsprøjte med paa-armeret grov kanyle. Blodlegemerne vaskedes, idet man til hvert glas satte 5 ccm fysiologisk saltvand, omrystede glassene omhyggeligt uden skumdannelse, og derpaa centrifugerede paany i 5 minutter. Efter at saltvandet var suget fra blodlegemerne, tilsatte man til hvert glas 2 ccm af prøvevædsken, saaledes at

Glas A indeholdt blodlegemer + 2 ccm fysiol. saltvand.

Glas B indeholdt blodlegemer + 2 ccm plasma fra en normal kanin.

Glas C indeholdt blodlegemer + 2 ccm af en Hepsol fortior opløsning paa 1 %.

Nu foretoges med hvert glas omhyggelige blandingsbevægelser i 1 minut, hvorefter indholdet i hvert glas deltes i fire dele, saaledes at man opsugede hver blodprøve i en record-sprøjte og overførte 0,5 ccm i hvert af 3 dværgreagensglas, resten udtømtes i de oprindelige glas, og paa prøverne i disse ($A_1 + B_1 + C_1$) taltes nu saavel erythrocyter som reticulocyter. Glassene $A_2B_2C_2$, $A_3B_3C_3$ og $A_4B_4C_4$ hensattes i thermostaten ved 40° i rotationsapparatet. To timer senere tog man glassene $A_2B_2C_2$ op af vandbadet, og bestemte erythrocyt- og reticulocyt-mængden paa disse prøver, efter 4 timer tog man glassene $A_3B_3C_3$ o. s. v. Resultaterne fremgaar af tabel 3.

Tid	Saltvand	Plasma	Hepsol fortior	
0	183	187	182	1.
2 timer	174	166	158	
4 timer	164	147	136	
6 timer	156	134	120	
0	100	100	100	2.
2 timer	95	89	87	
4 timer	90	79	75	
6 timer	85	71	66	
0	2,89	2,83	2,84	3.
2 timer	2,77	2,74	2,70	
4 timer	2,75	2,69	2,68	
6 timer	2,69	2,62	2,58	

Tabel 3
viser resultaterne af et almindeligt modningsforsøg.

1. Reticulocyt-mængdens variation, angivet i promille.
2. Reticulocyt-mængdens variation, angivet i % af begyndelses-mængden.
3. Variation af erythrocyterne i forsøgsperioden.

Som det ses af tabel 3, svinder reticulocyterne hurtigere i de prøver, hvor de findes opslemmet i plasma og Hepsol fortior opløsningen, end hvor de findes opslemmet i saltvand;

man må derfor udfra disse resultater slutte, at der saavel i plasma som i den anvendte leverextrakt (Hepsol fortior »MCO«) findes stoffer, der er i stand til at accelerere reticulocytmodningen in-vitro. Naar man samtidigt ser, at reticulocyterne, der findes opslemmet i saltvand, ogsaa er i stand til at udvikles, maa man antage, at der intracellulært findes stoffer, der er i stand til at paavirke modningen i nogen grad et forhold, der senere skal gøres nærmere rede for.

Resumé:

Der gøres rede for den anvendte forsøgsmetodik og et enkelt forsøg beskrives.

Blod fra en anæmiseret kanin centrifugeredes, og blodlegemerne vaskedes med saltvand. De saaledes vaskede blodlegemer opslemmedes i de vædske, hvis virkning paa reticulocytmodningen man vilde undersøge. Ved forsøgets begyndelse og med bestemte mellemrum bestemte man ved at udtage prøver antallet af reticulocyter i forhold til erythrocyter. Svindet i reticulocyternes antal giver et udtryk for deres modning.

SYVENDE KAPITEL

Egne undersøgelser over reticulocytyudviklingen med henblik paa fordelingen af de forskellige aldersgrupper indenfor disse celler.

Som tidligere nævnt har bl. a. Gawrilow (1929), Heilmeyer (1932), Heilmeyer & Westhäuser (1932), Trachtenberg (1932) samt Ungricht (1938) vist, at man ved en differentialtælling af reticulocyterne kan paavise en udvikling af disse celler. Man har derfor i det her foreliggende arbejde ofte foretaget denne differentialtælling paa grundlag af Trachtenbergs inddeling for at vise, at der virkelig var tale om en udvikling af cellerne, og at reticulocytvindet ikke beroede paa en almindelig celledestruktion.

Til undersøgelserne af de forskellige celletyper er anvendt tørpræparater, hvor man har bestemt reticulocytængden i forhold til erythrocytmængden, idet der som ved alle de øvrige bestemmelser af reticulocytængden er talt 2 $\times$ 500 celler.

Ved differentialtællingen er der talt 100 reticulocyter, saaledes at man baade har den procentiske fordeling af cellyperne og mængden af celler. Præparaterne til denne undersøgelse er fremstillet saaledes: paa et objectglas anbringes et par draaber 0,5 % brilliantkresylblaatoplosning i 96 % alkohol; naar dette er vel indtørret, tager man et par draaber blod, som man anbringer paa den indtørrede farveoplosning, derefter foretages en forsigtig blanding med et slebet objectglas, og endelig, efter ca. 1 minuts forløb foretages en almindelig udstrygning af blodet paa objectglasset. Efter tørringen efterfarves med *May-Grünwald-Giemsas* farvevædske.

Som det vil ses, er antallet af reticulocyter i de forskellige alderstrin i høj grad betinget af svindet af reticulocyterne, og derved ogsaa afhængig af de stoffer, der betinger reticulocyternes modning.

Modningen af de reticulocyter, som er opslemmet i en fysiologisk kogsaltopløsning, foregaar kun i ringe udstrækning i den tid, de her anførte undersøgelser varer, og de forskyd-

Metodik	tørt	fug- tigt	tørt	fug- tigt	tørt	fug- tigt	tørt	fug- tigt
Henstandstiden	0 timer		2 timer		4 timer		6 timer	
Saltvand	198	209	193	207	185	195	168	189
Hepsol fortior	194	190	167	163	149	144	119	177
Kanin, ubehandlet	204	210	188	193	169	174	157	162
Kanin, behandlet .	196	200	170	173	152	156	133	136
Menneske ♂.	202	210	184	191	168	175	154	156
Rotte	203	216	183	195	170	181	156	169
Mus	196	208	180	191	167	177	157	170

Tabel 4.

Mængden af reticulocyter talt i henholdsvis tørre og fugtige præparater.

ninger, der ses indenfor de forskellige aldersklasser er da ogsaa minimale, hvorimod der i plasma fra en kanin, der gennem længere tid har været udsat for aareladning (hjerterpunktur), som det skal ses i de efterfølgende undersøgelser, findes rigelige mængder af de stoffer, der betinger modningen, hvorfor der ved en differentiantælling af prøver, hvor blodlegemerne har været opslemmet i saadant plasma, findes en tydelig forskydning indenfor de forskellige aldersklasser af reticulocyterne.

Dette taget sammen med de iagttagelser, der er gjort ved de andre i dette arbejde beskrevne forsøg over reticulocytmodningen viser, at deres udvikling er nøje knyttet til

plasmaets indhold af visse stoffer, der er nødvendige for denne proces.

Det ses af tabel 5 og 6, af fig. 7 og 8, at først forsvinder de yngste grupper af reticulocyterne, og dette svind af de yngste grupper dominerer hele det billede, man ser i mikroskopet. Gruppe IV er hovedsagelig uforandret. Disse forhold stemmer nøje med de tidligere undersøgelser over ændringen af mængden af substantia granulo-filamentosa, som er gjort af *Pepper* (1922) og af *Heath & Daland* (1930). Naar man finder, at gruppe IV under de opstillede forsøg holder sig uforandret, maa det tydes saaledes, at modningen af gruppe IV til strukturløse erythrocyter sker med samme hastighed, som modningen af de andre grupper til gruppe IV.

Resumé:

Det fald, der under de her fremstillede modningsforsøg ses i reticulocyt-mængden, er ledsaget af en tilsvarende forskydning af reticulocyter fra yngre til ældre typer, hvorfor man maa være berettiget til at slutte, at faldet i reticulocyt-tallet skyldes en progressiv modning af disse til røde blodlegemer, og ikke en selektiv destruktion af reticulocyterne under henstand. Da den hastighed, hvormed reticulocyterne forsvinder, er afhængig af det milieu, hvori de opholder sig, er man berettiget til at tale om modningsstoffer for reticulocyterne.

Differentialtælling.

Henstandstiden Gruppe.....	0 timer				2 timer				4 timer				6 timer			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Saltvand	36	44	57	61	31	42	58	62	26	45	54	61	23	43	53	59
	18	22	29	31	16	22	30	32	14	24	29	33	13	24	30	33
Hepsol fort. 0—66,1 % .	37	47	52	58	22	45	50	50	13	30	49	57	7	21	32	59
	19	24	27	30	13	27	30	30	9	20	33	38	5	16	24	45
Kanin, ubehandlet	37	53	53	61	26	49	53	60	24	37	44	64	17	36	38	66
	18	26	26	30	14	26	28	32	14	22	26	38	11	25	24	42
Kanin, behandlet	38	43	55	60	27	41	51	51	15	27	43	43	5	21	35	72
	19	22	28	31	16	24	30	30	10	18	28	44	4	16	26	54
Menneske (σ)	36	46	59	61	29	35	55	65	22	34	50	62	12	31	40	71
	18	23	29	30	16	19	30	35	13	20	30	37	8	20	26	46
Rotte	37	45	59	62	27	37	59	60	24	30	48	68	11	36	39	70
	18	22	29	31	15	20	32	33	14	18	28	40	7	23	25	45
Mus	37	43	55	61	31	36	54	59	22	34	51	62	19	27	50	61
	19	22	28	31	17	20	30	33	13	20	30	37	12	17	32	39

Tabel 5.

Typevariationer af reticulocyter i et modningsforsøg.

Nederste tal angiver den procentiske fordeling. Øverste tal angiver mængden i promille.

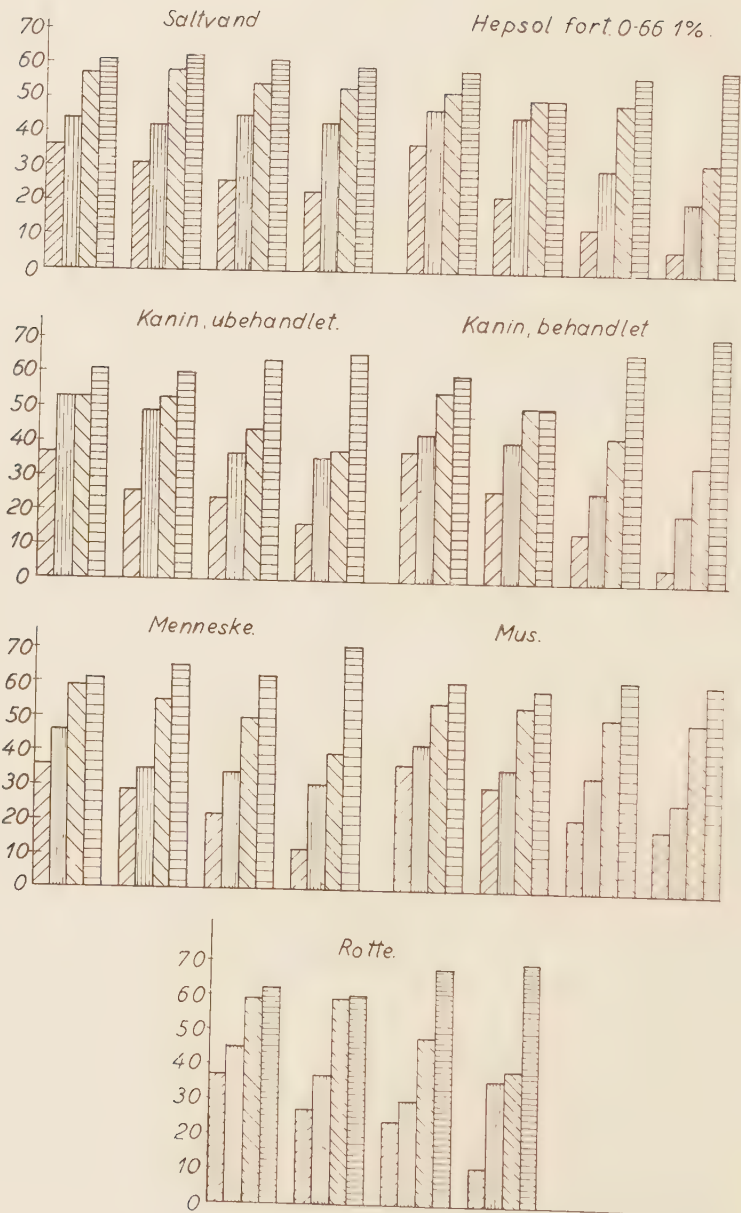


Fig. 7.

Variationer i de forskellige reticulocytagrupper gennem forsøgsperioden angivet i relative værdier. Ordinat: Promille reticulocyter.

▨ Gruppe I ■ Gruppe II □ Gruppe III ▤ Gruppe IV.

Differentialtælling.

Henstandstiden Gruppe	0 timer				2 timer				4 timer				6 timer			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Saltvand	28	40	48	58	24	39	50	58	21	36	49	58	20	35	45	59
	16	24	27	33	14	23	29	34	13	22	30	35	13	22	28	37
Hepsol fort. 0—66,1 %	29	43	45	55	18	32	48	52	12	24	45	50	7	16	40	47
	17	25	26	32	12	21	32	35	9	18	35	38	6	15	36	43
Kanin, ubehandlet	27	42	45	54	21	32	44	53	18	27	37	54	12	25	33	53
	16	25	27	32	14	22	29	35	13	20	27	40	10	20	27	43
Kanin, behandlet	30	43	49	58	22	35	47	53	17	26	46	50	9	18	40	48
	17	24	27	32	14	22	30	34	12	19	33	36	8	16	35	41
Menneske (♀)(M.ads.)	27	44	50	56	20	31	45	60	13	23	44	54	8	17	40	50
	15	25	28	32	13	20	29	38	10	17	33	40	7	15	35	43
Menneske (♀)(M.abs.)	27	44	46	53	21	36	44	49	18	35	37	46	15	25	37	47
	16	26	27	31	14	24	29	33	13	26	27	34	12	20	30	38
Rotte	28	43	48	54	21	40	40	49	19	36	36	47	15	28	38	45
	16	25	28	31	14	27	27	32	14	26	26	34	12	22	30	36
Mus	29	42	47	51	25	38	42	49	21	32	39	46	16	29	36	44
	17	25	28	30	16	25	27	32	15	24	28	33	13	23	29	35

Tabel 6.

Typevariationer af reticulocyter i et modningsforsøg.

Nederste tal angiver den procentiske fordeling. Øverste tal angiver mængden i promille.

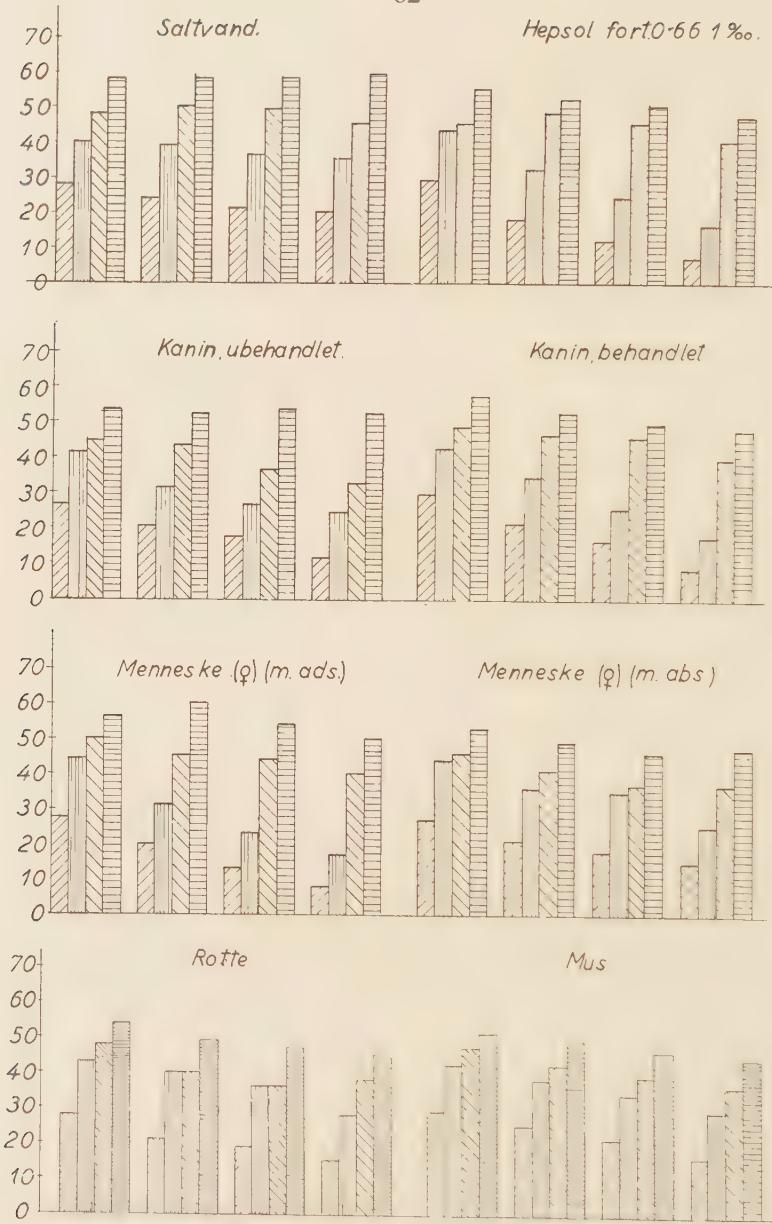


Fig. 8.

Variationer i de forskellige reticulocyttgrupper gennem forsøgsperioden angivet i relative værdier. Ordinat: Promille reticulocyter.

Gruppe I Gruppe II Gruppe III Gruppe IV.

OTTENDE KAPITEL

Modningsindex.

Naar man gennem daglige aareladninger har faaet en veludtalt reticulocytose hos en kanin, har man som tidligere nævnt bedre lejlighed til at undersøge udviklingen af reticulocyterne end hos en normal kanin, hvor det lave reticulocytaltal formindsker den nøjagtighed, hvormed de enkelte bestemmelser kan foretages, og hvor de yngre former af reticulocyter ikke er saa rigt repræsenteret saavel relativt som absolut, hvad der er en mangel, naar det drejer sig om at undersøge modningen. Ved den her angivne metode er der mulighed for at undersøge reticulocytmodningen i forskellige vædsker paa ens blodlegemer, idet man som anført har vasket blodlegemerne fri for plasma, saaledes at de let kan opslemmes i de vædsker, man vil undersøge.

Ved bearbejdelsen af de fundne resultater viste det sig, at modningsprocessen under de her angivne forhold følger ligningen for den monomolekylære reaktion, hvorfor man i det her foreliggende arbejde har valgt at benytte konstanten i denne ligning som et udtryk for modningshastigheden.

Den monomolekylære reaktionshastighedsligning kan skrives:

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

hvor t er henstandstiden, a er begyndelsesmængden og x er den forsvundne mængde. I det her foreliggende arbejde er t angivet i timer, a = Begyndelsesmængden = 100 %, og x er det procentiske svind, angivet i hele tal. Tabel 11 angiver $\log a : (a-x)$ saaledes, som det er anvendt i alle udregninger.

I tabel 9 er angivet et par eksempler paa de grundlæggende forsøg, der dels viser den anvendte opstilling af forsøgsresultaterne, dels udregningen af modningshastigheden. Som det tydeligt fremgaar af tabel 7 og 9, er modningshastigheden, k , afhængig af koncentrationen af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne i de undersøgte vædske, saaledes at man finder, at der er ligefrem proportionalitet mellem modningshastigheden udtrykt ved hjælp af konstanten i den monomolekylære reaktions hastighedsligning og koncentrationen af modningsstoffer i den undersøgte vædske.

For at faa et udtryk for den spontane modning, det vil sige, den modning, der er betinget af stoffer, som indeholdes i blodlegemerne selv, har man opslemmet disse i saltvand (0,9 % NaCl), og derved faas ved udregning en modningskonstant $= K_s$. Opslemmes blodlegemerne i plasma eller en anden vædske, hvis indhold af modningsstoffer man vil undersøge, faas en modningskonstant K_{pl} eller K_f ; denne er et udtryk for saavel den spontane modning som den modning, der er fremkaldt af de tilsatte modningsstoffer, hvorfor man for at faa modningskonstanten for selve den undersøgte vædske maa subtrahere modningskonstanten for den spontane modning. Man faar altsaa, at modningskonstanten for den undersøgte vædske er for eksempel for plasmas vedkommende:

$$K_{pl} - K_s = K.$$

Modningen af reticulocyterne er tidligere undersøgt, blandt andet af *Heath & Daland* (1950), og de har vist, at svindet af reticulocyterne følger en eksponentiel ligning, og som her vist lader den hastighed, hvormed de svinder, sig beregne udfra den monomolekylære reaktions hastighedsligning. Af tabel 10 og fig. 11—12 fremgaar rigtigheden af at anvende den monomolekylære reaktions hastighedsligning til at udtrykke modningshastigheden, idet de afvigelser, man finder i svindet: beregnet og fundet, er af samme størrelsesorden, som den almindelige lov for fejl ved disse tællinger angiver.

Da man i de her angivne forsøg ikke har kunnet anvende en og samme kanin til alle forsøg, var det naturligt at undersøge 1) hvorvidt samme kanin har samme spontane modnings-

Dato	Kanin nr.	$\frac{0}{100}$ Reticulo- cyter	0.9 $\frac{0}{100}$ NaCl k_s	1 $\frac{0}{100}$ leverextrakt 0—66 standard		Undersøgt prøve	1 $\frac{0}{100}$ leverextrakt undersøgt		$\frac{k^1}{k}$
				k_f	k		k_f^1	k^1	
24. Juli	153	159	0.0112	0.0356	0.0244	»Hepsol«	0.0172	0.0060	0.246
25. Juli	68	68	0.0083	0.0331	0.0248	—	0.0151	0.0068	0.274
1. Dec.	7	193	0.0094	0.0274	0.0180	0—96	0.0258	0.0164	0.914
4. Dec.	21	167	0.0118	0.0321	0.0203	—	0.0302	0.0184	0.914
18. Nov.	19	203	0.0122	0.0279	0.0157	1—119	0.0405	0.0287	1.83
19. Nov.	7	233	0.0099	0.0283	0.0184	—	0.0416	0.0317	1.72
20. Nov.	21	147	0.0102	0.0261	0.0159	—	0.0391	0.0289	1.82
7. Aug.	118	173	0.0074	0.0292	0.0218	0—85	0.0307	0.0233	1.07
3. Sept.	190	106	0.0090	0.0274	0.0184	—	0.0285	0.0195	1.06

Tabel 7.
Undersøgelser af nogle leverextrakter ved hjælp af en standard.

hastighed uafhængig af mængden af reticulocyter, varieret ved anæmisering, 2) om den spontane modningshastighed er ens hos alle dyr indenfor samme gruppe, i dette tilfælde kaniner og 3) om forholdet mellem modningskonstanterne i to opløsninger af modningsstoffer er det samme fra kanin til kanin.

Undersøgelser over den spontane modningshastighed hos det enkelte dyr viser, som det fremgaar af tabel 8, at det er meget smaa variationer, man finder ved at variere reticulocyt-mængden, medens man ser, at der er store variationer i den spontane modningshastighed fra dyr til dyr, idet den hos de 49 undersøgte dyr varierede fra 0,0075 til 0,0189. Drejer det sig om at undersøge mængden af modningsstoffer i en tilsat opløsning, ser man af tabel 8, hvor man har undersøgt forholdet med en Hepsol fortior (0-66) opløsning paa 1 %, at hos det enkelte dyr varierer modningshastigheden for denne Hepsolopløsning ikke mere end den spontane modningshastighed, medens der, ligesom ved den spontane modning, ses store variationer fra dyr til dyr.

Ved undersøgelse af 49 forskellige kaniner med henblik paa den spontane modningshastighed og modningshastigheden efter tilsætning af modningsstoffer, kunde det saaledes vises, at der hos det enkelte dyr ikke fandtes nogen variation i disse konstanter, naar reticulocyt-mængden svingede, medens der var store variationer fra dyr til dyr. Den spontane modningshastighed laa for de fleste dyr mellem 0,0090 — 0,0130; det maa dog nævnes, at man hos to dyr fandt en meget høj modningshastighed, nemlig 0,0189 — 0,0184.

Da der findes denne variation fra dyr til dyr af saavel den spontane som den experimentelt fremkaldte modning af reticulocyterne, maatte der for at faa sammenlignelige resultater indføres en *standard*. Som standard valgtes en Hepsol fortior opløsning af styrken 1 %.

Den til standard anvendte leverextrakt, hepsol fortior »MCO« havde fabrikationsnummer: 0-66, hvorfra den i det følgende vil blive betegnet: Hepsol fortior, 0-66.

Hepsol fortior »MCO« fabrikeres i henhold til den af Kyer (1935) angivne opskrift.

Som eksempel paa anvendelse af denne standard skal anføres

Hjertepunktur.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter ‰	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 ‰	K _h ÷ K _s
17. 10. 1941	3	83	0.0123	0.0306	0.0183
21. 10. —	—	126	0.0129	0.0308	0.0179
24. 10. —	—	183	0.0132	0.0304	0.0172
			0.0128	0.0306	0.0178
18. 10. 1941	6	100	0.0094	0.0285	0.0191
20. 10. —	—	119	0.0103	0.0303	0.0200
			0.0099	0.0294	0.0195
7. 11. 1941	7	237	0.0091	0.0278	0.0187
11. 11. —	—	231	0.0105	0.0297	0.0192
15. 11. —	—	227	0.0095	0.0302	0.0207
20. 11. —	—	256	0.0097	0.0287	0.0190
			0.0097	0.0291	0.0194
6. 11. 1941	8	221	0.0090	0.0256	0.0166
5. 11. 1941	9	123	0.0096	0.0231	0.0135
8. 11. —	—	201	0.0094	0.0218	0.0124
10. 11. —	—	149	0.0115	0.0246	0.0131
			0.0102	0.0232	0.0130
12. 11. 1941	13	147	0.0136	0.0381	0.0245
13. 11. —	—	229	0.0148	0.0379	0.0231
			0.0142	0.0380	0.0238
18. 11. 1941	19	203	0.0122	0.0279	0.0157
21. 11. 1941	21	245	0.0108	0.0247	0.0139
27. 11. —	—	197	0.0112	0.0259	0.0147
			0.0110	0.0253	0.0143
2. 3. 1942	106	162	0.0095	0.0247	0.0152
5. 3. —	—	229	0.0108	0.0260	0.0152
			0.0102	0.0254	0.0152

Hjertepunktur.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter ‰	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 ‰	K _h ÷ K _s
7. 3. 1942	107	178	0.0088	0.0271	0.0183
11. 3. —	—	203	0.0106	0.0305	0.0199
20. 3. —	—	163	0.0092	0.0273	0.0181
			0.0095	0.0280	0.0185
21. 3. 1942	108	158	0.0094	0.0254	0.0160
19. 3. 1942	114	123	0.0108	0.0277	0.0169
23. 3. —	—	133	0.0104	0.0264	0.0160
			0.0106	0.0271	0.0165
17. 1. 1941	132 ²	25	0.0123	0.0360	0.0247
19. 7. 1941	143	38	0.0138	0.0347	0.0209
27. 9. 1941	144	43	0.0114	0.0285	0.0171
4. 10. 1941	144 ²	179	0.0142	0.0326	0.0184
8. 10. —	—	163	0.0151	0.0313	0.0162
			0.0147	0.0320	0.0173
16. 5. 1941	145	62	0.0082	0.0309	0.0227
27. 5. —	—	67	0.0091	0.0308	0.0217
2. 6. —	—	82	0.0082	0.0301	0.0219
4. 6. —	—	91	0.0093	0.0317	0.0224
6. 6. —	—	102	0.0098	0.0304	0.0206
9. 6. —	—	104	0.0093	0.0307	0.0214
13. 6. —	—	112	0.0093	0.0320	0.0227
19. 6. —	—	134	0.0089	0.0316	0.0227
23. 6. —	—	156	0.0091	0.0314	0.0223
25. 6. —	—	188	0.0097	0.0323	0.0226
			0.0091	0.0312	0.0221
23. 7. 1941	145 ²	67	0.0083	0.0324	0.0241
25. 7. —	—	68	0.0083	0.0331	0.0248
30. 7. —	—	166	0.0090	0.0341	0.0251
1. 8. —	—	189	0.0096	0.0339	0.0243
			0.0090	0.0330	0.0240

H j e r t e p u n k t u r.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter 0/60	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 0/0	K _h ÷ K _s	
28.7. 1941		148	140	0.0092	0.0241	0.0149
29.7. —		—	149	0.0096	0.0261	0.0165
31.7. —		—	167	0.0093	0.0243	0.0150
2.8. —		—	162	0.0091	0.0247	0.0156
4.8. —		—	151	0.0089	0.0250	0.0161
5.8. —		—	132	0.0089	0.0241	0.0152
6.8. —		—	170	0.0090	0.0249	0.0159
7.8. —		—	187	0.0099	0.0252	0.0153
8.8. —		—	203	0.0096	0.0256	0.0160
29.8. —		—	86	0.0093	0.0237	0.0144
				0.0093	0.0248	0.0155
13.7. 1941		149 ¹	18	0.0075	0.0300	0.0225
18.7. 1941		153	39	0.0103	0.0356	0.0253
21.7. —		—	131	0.0100	0.0341	0.0241
24.7. —		—	159	0.0112	0.0356	0.0244
26.7. —		—	146	0.0090	0.0341	0.0251
				0.0101	0.0349	0.0248
15.7. 1941		154 ¹	24	0.0106	0.0294	0.0188
30.5. 1941		166 ¹	63	0.0098	0.0311	0.0213
16.7. 1941		166 ²	24	0.0185	0.0432	0.0247
13.5. 1941		167 ¹	139	0.0107	0.0284	0.0177
15.6. 1941		167 ³	31	0.0091	0.0299	0.0208
30.6. 1941		190	108	0.0126	0.0304	0.0178
2.7. —		—	129	0.0114	0.0279	0.0165
3.7. —		—	167	0.0119	0.0288	0.0169
5.7. —		—	219	0.0123	0.0284	0.0161
				0.0123	0.0289	0.0166
3.9. 1941		190 ³	113	0.0126	0.0299	0.0173
4.9. —		—	179	0.0123	0.0289	0.0166
				0.0125	0.0294	0.0169

H j e r t e p u n k t u r.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter ‰	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 ‰	K _h ÷ K _s
18. 9. 1941	 241	83	0.0103	0.0342	0.0239
19. 9. —	 —	103	0.0107	0.0332	0.0225
21. 9. —	 —	132	0.0105	0.0334	0.0229
22. 9. —	 —	141	0.0110	0.0349	0.0239
23. 9. —	 —	154	0.0112	0.0346	0.0234
25. 9. —	 —	167	0.0096	0.0325	0.0229
			0.0106	0.0338	0.0232
9. 9. 1941	 288	86	0.0078	0.0236	0.0158
11. 9. —	 —	124	0.0069	0.0224	0.0155
15. 9. —	 —	146	0.0075	0.0231	0.0156
17. 9. —	 —	169	0.0079	0.0229	0.0150
			0.0075	0.0230	0.0155
1. 9. 1941	 300	100	0.0107	0.0241	0.0134
2. 9. —	 —	153	0.0114	0.0257	0.0143
			0.0110	0.0249	0.0139
18. 6. 1941	 graa	24	0.0199	0.0400	0.0201
26. 6. —	 —	70	0.0178	0.0414	0.0236
28. 6. —	 —	81	0.0185	0.0428	0.0243
1. 6. —	 —	84	0.0193	0.0420	0.0227
			0.0189	0.0416	0.0227

Å r e l a d n i n g a. m. S j ö v a l l.

27. 2. 1942	 107 ¹	179	0.0088	0.0271	0.0183
22. 4. —	 —	117	0.0107	0.0281	0.0174
8. 5. —	 —	221	0.0115	0.0351	0.0236
13. 5. —	 —	181	0.0126	0.0356	0.0230
18. 5. —	 —	194	0.0112	0.0316	0.0204
27. 5. —	 —	191	0.0104	0.0305	0.0201

Aareladning a. m. Sjövall.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter 0/00	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 0/0	K _h ÷ K _s	
29. 5. 1942		107 ¹	199	0.0112	0.0320	0.0208
1. 6. —		—	278	0.0112	0.0305	0.0193
3. 6. —		—	321	0.0109	0.0301	0.0192
4. 6. —		—	290	0.0108	0.0313	0.0205
11. 6. —		—	201	0.0105	0.0305	0.0200
12. 6. —		—	189	0.0111	0.0314	0.0203
13. 6. —		—	169	0.0120	0.0301	0.0181
17. 6. —		—	199	0.0104	0.0314	0.0210
				0.0109	0.0314	0.0205
30. 3. 1942		105	128	0.0112	0.0305	0.0193
15. 4. —		—	174	0.0108	0.0281	0.0173
				0.0110	0.0293	0.0183
31. 3. 1942		108 ¹	143	0.0098	0.0289	0.0191
14. 4. —		—	218	0.0100	0.0275	0.0175
21. 4. —		—	149	0.0108	0.0284	0.0176
23. 4. —		—	159	0.0104	0.0294	0.0190
24. 4. —		—	129	0.0111	0.0297	0.0186
25. 4. —		—	168	0.0108	0.0302	0.0194
2. 5. —		—	202	0.0111	0.0280	0.0169
4. 5. —		—	253	0.0108	0.0285	0.0177
6. 5. —		—	248	0.0112	0.0301	0.0189
9. 5. —		—	273	0.0112	0.0305	0.0193
15. 5. —		—	224	0.0108	0.0309	0.0201
16. 5. —		—	266	0.0115	0.0317	0.0202
				0.0108	0.0295	0.0187
28. 4. 1942		114 ¹	103	0.0111	0.0305	0.0194
22. 5. 1942		118	281	0.0100	0.0356	0.0256
23. 5. —		—	403	0.0122	0.0379	0.0257
				0.0111	0.0368	0.0257

A areladning a. m. Sjövall.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter ‰ ₀₀	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0—66 1 ‰ ₀	K _h ÷ K _s
6. 6. 1942	118 ¹	244	0.0126	0.0339	0.0213
15. 6. —	—	143	0.0103	0.0309	0.0206
29. 6. —	—	333	0.0115	0.0319	0.0204
			0.0115	0.0322	0.0207
10. 6. 1942	108 ²	51	0.0103	0.0322	0.0219
30. 6. 1942	93	370	0.0126	0.0321	0.0195
1. 7. —	—	524	0.0111	0.0329	0.0218
3. 7. —	—	468	0.0115	0.0334	0.0219
4. 7. —	—	376	0.0115	0.0330	0.0215
9. 7. —	—	296	0.0122	0.0344	0.0222
13. 7. —	—	224	0.0118	0.0346	0.0228
			0.0118	0.0334	0.0216
2. 7. 1942	92	449	0.0118	0.0326	0.0208
8. 7. —	—	324	0.0114	0.0327	0.0213
10. 7. —	—	209	0.0128	0.0350	0.0222
			0.0120	0.0334	0.0214
6. 7. 1942	94	193	0.0128	0.0370	0.0242
15. 7. —	—	203	0.0115	0.0356	0.0241
			0.0122	0.0363	0.0241
14. 7. 1942	95	281	0.0118	0.0397	0.0279
16. 7. —	—	271	0.0122	0.0395	0.0273
18. 7. —	—	245	0.0122	0.0400	0.0278
			0.0121	0.0397	0.0276
12. 9. 1942	106 ¹	237	0.0111	0.0333	0.0222
13. 9. —	—	172	0.0115	0.0335	0.0220

Aareladning a. m. Sjövall.

Dato	Kanin nr.	Reticu- locyter ‰	K _s = saltvand	K _h = Hepsol 0-66 1 ‰	K _h ÷ K _s
16. 9. 1942	106 ¹	158	0.0111	0.0329	0.0218
18. 9. —	—	168	0.0115	0.0343	0.0228
			0.0113	0.0335	0.0222
7. 10. 1942	108 ³	298	0.0128	0.0319	0.0191
8. 10. —	—	360	0.0132	0.0326	0.0194
9. 10. —	—	348	0.0135	0.0334	0.0199
			0.0132	0.0326	0.0194
1. 9. 1942	199	139	0.0118	0.0358	0.0240
2. 9. —	—	138	0.0121	0.0361	0.0240
3. 9. —	—	172	0.0125	0.0358	0.0233
4. 9. —	—	195	0.0114	0.0356	0.0242
7. 9. —	—	174	0.0115	0.0365	0.0250
8. 9. —	—	190	0.0107	0.0362	0.0255
9. 9. —	—	136	0.0118	0.0361	0.0243
10. 9. —	—	126	0.0111	0.0347	0.0236
11. 9. —	—	175	0.0115	0.0370	0.0255
19. 9. —	—	96	0.0118	0.0361	0.0243
21. 9. —	—	129	0.0114	0.0348	0.0234
22. 9. —	—	153	0.0112	0.0362	0.0250
23. 9. —	—	154	0.0118	0.0361	0.0243
25. 9. —	—	171	0.0118	0.0359	0.0241
2. 10. —	—	184	0.0128	0.0361	0.0233
3. 10. —	—	194	0.0122	0.0374	0.0252
10. 10. —	—	345	0.0115	0.0352	0.0237
			0.0117	0.0358	0.0241

Tabel 8

angiver variationer i den spontane modningshastighed og den experimentelle modningshastighed angivet udfra den monomolekylære reaktions hastighedsligning.

nogle undersøgelser over forskellige Hepsol fortior opløsninger; resultaterne fremgaar af tabel 7, og det ses heraf, at man

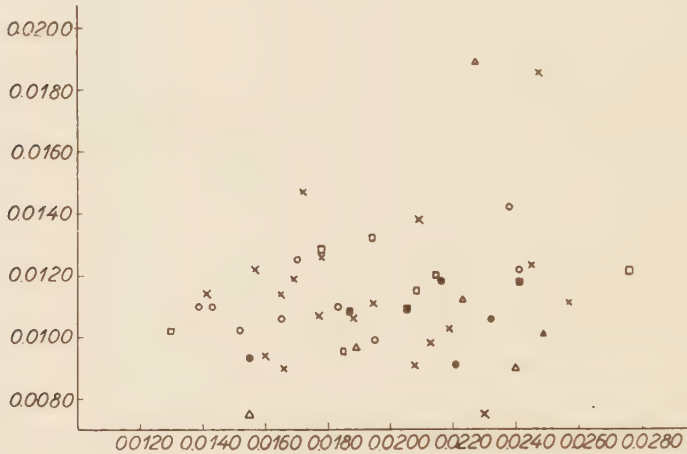


Fig. 9.

Relation mellem den spontane modning og induceret modning, udtrykt ved modningskonstanten.

Ved induceret modning forstaas den modning, der er betinget af tilsatte modningsstoffer.

- × Enkelt bestemmelse
- 2 bestemmelser
- 3 bestemmelser
- △ 4 bestemmelser
- 5—10 bestemmelser
- over 10 bestemmelser

Abscisse: Induceret modningskonstant.

Ordinat: Spontan modningskonstant.

Det ses af figuren, at der ingen relation er mellem den spontane modning og forøgelsen i modningshastigheden som følge af tilsat leverextrakt, idet en ringe spontanmodning godt kan modsvares af en stor induceret modning og omvendt, hvorfor det er absolut nødvendigt at indføre en standard for at faa sammenlignelige resultater, naar man anvender flere forsøgsdyr.

ved indførelsen af denne standard faar direkte sammenlignelige resultater, og at der er overensstemmelse mellem disse, selv naar der anvendes forskellige kaniner til forsøgene.

I stedet for at angive de fundne resultater direkte ved modningshastigheden (*modningskonstanten*), har man valgt at sætte den i forhold til en *modningsenhed*, som er modnings-

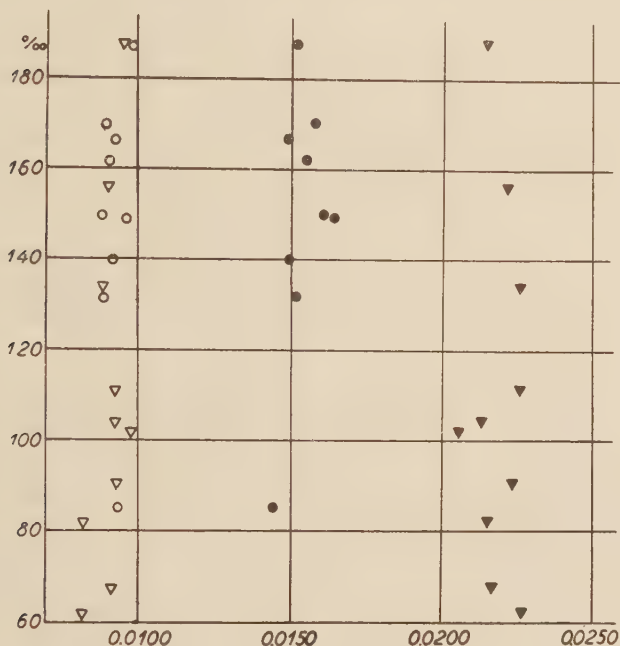


Fig. 10.

Variationer i forholdet mellem den spontane modning og inducerede modning hos to kaniner, hvor reticulocyt-mængden varieres som følge af anæmisering.

- | | | |
|---|-----------|---|
| ▽ | kanin 145 | } modningskonstant for den spontane modning. |
| ○ | kanin 148 | |
| ▼ | kanin 145 | } modningskonstant for den inducerede modning.
(Hepsol fortior 1 %). |
| ● | kanin 148 | |

Abscisse: Modningskonstant. Ordinaten: Reticulocyt $\%$.

hastighed i oxeplasma. Et vilkaarligt stofs modningsindex er forholdet mellem den af stoffet fremkaldte modningshastighed og den tilsvarende hastighed for oxeplasma overfor de samme blodlegemer og ved samme temperatur.

Førsgskanin Nr. 167.

76

	Henstands- tid i timer	Reticulocyter				Erythrocyter			
		Salt- vand	Hepsol fortior				Salt- vand	Hepsol fortior	
			$\frac{1}{2}$ 0/0	0	1 0/0	2 0/0		$\frac{1}{2}$ 0/0	2 0/0
Reelt svind.....	0	136	130	140	134	134	3.36	3.22	3.31
	2	128	113	112	90	90	3.28	3.18	3.24
	4	124	98	86	66	66	2.99	2.86	2.96
	6	116	83	69	47	47	2.83	2.77	2.81
Procentisk svind	2	6	13	20	33	33			
	4	9	25	38	51	51			
	6	15	36	51	65	65			
$k = \frac{1}{t} \log_a a \div x$	2	0.0144	0.0303	0.0485	0.0870	0.0870			
	4	0.0103	0.0312	0.0519	0.0775	0.0775			
	6	0.0118	0.0323	0.0516	0.0760	0.0760			
		0.0122	0.0313	0.0507	0.0802	0.0802			

(fortsattes næste side)

Forsøgskanin Nr. 190.

Henstands- tid i timer	Reticulocyter					Erythrocyter					
	Salt- vand	Hepsol fort. 0—66 $\frac{1}{2}$ 0/0	1 0/0	Kanin- plasma (144)	Kanin- plasma (145)	Salt- vand	Hepsol fort. 0—66 $\frac{1}{2}$ 0/0	1 0/0	Kanin- plasma (144)	Kanin- plasma (145)	
Reelt svind.....	0	114	115	105	113	110	3.02	3.14	3.06	3.16	3.00
	2	108	102	92	101	99	2.96	2.90	3.08	2.93	3.12
	4	102	96	81	90	88	2.90	2.83	2.91	2.85	2.92
	6	95	86	69	81	79	2.94	2.82	2.86	2.80	2.83
Procentisk svind	2	5	9	14	11	10					
	4	10	18	23	20	20					
	6	17	25	34	29	28					
$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a \div x}$	2	0.0112	0.0205	0.0328	0.0253	0.0228					
	4	0.0115	0.0216	0.0284	0.0242	0.0242					
	6	0.0136	0.0208	0.0301	0.0248	0.0238					
		0.0127	0.0210	0.0304	0.0248	0.0236					

(fortsættes næste side)

Forsøgskanin Nr. 146.

	Henstandstid i timer	Erythrocyter opslemmet i NaCl (0.9 %)	Erythrocyter opslemmet i 0.9% NaCl med Hepsol fort. 1 %	Erythrocyter opslemmet i nor- malt Menneske- plasma
		Reticulocyt- procent	Reticulocyt- procent	Reticulocyt- procent
Reelt svind	0	35.2	34.5	34.9
	2	33.8	30.7	31.8
	4	32.4	27.6	29.0
	6	31.0	24.8	26.4
Procentisk svind	2	4	11	9
	4	8	20	17
	6	12	28	24
$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a \div x}$	2	0.0089	0.0253	0.0204
	4	0.0090	0.0242	0.0202
	6	0.0091	0.0238	0.0199
		$k_s = 0.0090$	$k_h = 0.0244$	$k_{pl} = 0.0202$

(fortsattes næste side)

Forsøgskanin Nr. 13.

Henstands- tid i timer	Reticulocyter					Erythrocyter				
	Salt- vand	Hepsol fort. 0.66 1 0/0	Kanin- plasma	Mar- svine- plasma	Men- neske- plasma	Salt- vand	Hepsol- fort. 0.66 1 0/0	Kanin- plasma	Mar- svine- plasma	Men- neske- plasma
Reelt svind	0	212	228	220	210	218	3.53	3.48	3.44	3.49
	2	203	205	200	193	196	3.41	3.40	3.33	3.31
	4	196	182	185	183	183	3.46	3.32	3.26	3.36
	6	186	161	165	172	161	3.23	3.26	3.20	3.29
Procentisk svind	2	4	10	9	8	10				
	4	8	20	16	13	16				
	6	12	28	25	18	26				
$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a \div x}$	2	0.0089	0.0229	0.0205	0.0181	0.0229				
	4	0.0090	0.0242	0.0190	0.0151	0.0190				
	6	0.0091	0.0238	0.0208	0.0144	0.0218				
		0.0090	0.0236	0.0201	0.0159	0.0212				

Tabel 9

angiver 4 almindelige modningsforsøg og disse resultaters opstilling og udregning.

Forsøgskanin Nr. 167.

Henstandstid i timer	Saltvand $k = 0.0122$		Hepsol fortior 0-66 $\frac{1}{2} 0/0$ $k = 0.0313$		Hepsol fortior 0-66 $1 0/0$ $k = 0.0507$		Hepsol fortior 0-66 $2 0/0$ $k = 0.0802$	
	fundet	beregnet	fundet	beregnet	fundet	beregnet	fundet	beregnet
1		2.7		6.9		11.1		16.9
2	6	5.6	13	13.2	20	20.8	33	30.9
3		8.1		19.5		29.5		42.5
4	9	10.5	25	25.0	38	37.9	51	52.2
5		13.1		30.8		44.2		60.3
6	15	15.5	36	35.1	51	50.3	65	66.9

Forsøgskanin Nr. 190.

Henstandstid i timer	Saltvand $k = 0.0121$		Hepsol fortior 0-66 $\frac{1}{2} 0/0$ $k = 0.0210$		Hepsol fortior 0-66 $1 0/0$ $k = 0.0304$		Kaninplasma (144) $k = 0.0248$		Kaninplasma (145) $k = 0.0236$	
	fundet	beregnet	fundet	beregnet	fundet	beregnet	fundet	beregnet	fundet	beregnet
1		2.7		4.8		6.7		5.6		5.2
2	5	5.4	9	10.0		13.0	11	10.8	10	10.2
3		8.1		13.5		19.0		15.8		15.2
4	10	10.5	18	17.6		24.4	20	20.5	20	19.6
5		13.0		21.5		29.2		24.7		23.7
6	17	15.4	25	25.2		34.3	29	29.0	28	27.8

(fortsættes næste side)

Forsøgskanin Nr. 13.

Henstandstid i timer	Saltvand k = 0.0090		Hepsol fortior 0.66 1 % k = 0.0236		Kaninplasma k = 0.0201		Marsvineplasma k = 0.0159		Menneske- plasma k = 0.0212	
		fundet beregnet		fundet beregnet		fundet beregnet		fundet beregnet		fundet beregnet
1		2.0		5.6		4.5		3.6		4.8
2	4	3.9	10	10.4	9	8.9	8	7.1	10	9.1
3		6.1		15.3		13.0		10.4		13.6
4	8	8.1	20	19.7	16	16.8	13	13.6	16	17.7
5		9.9		23.3		20.4		16.8		21.3
6	12	11.8	28	28.1	25	24.3	18	19.9	26	25.4

Tabel 10
angiver de fundne og beregnede procentiske svind af reticulocyterne
under modningsforsøg.

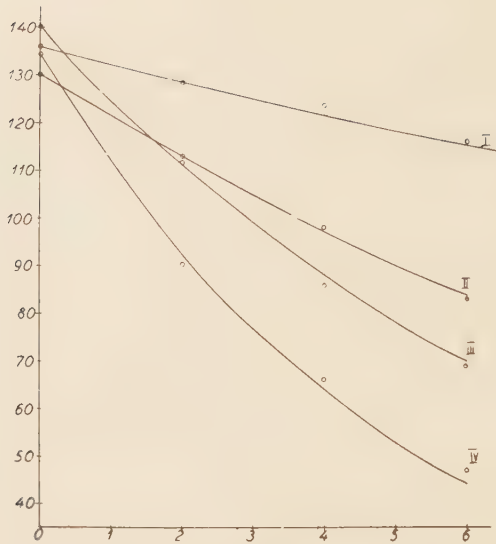


Fig. 11.

Faldet i reticulocytmængden gennem forsøgsperioden. De optrukne linier viser det beregnede fald efter den fundne modningskonstant.

I Saltvand.

II $\frac{1}{2}$ % Hepsol fortior.

III 1 % Hepsol fortior.

IV 2 % Hepsol fortior.

Abscisse: Tid i timer. Ordinát: Reticulocyt ‰

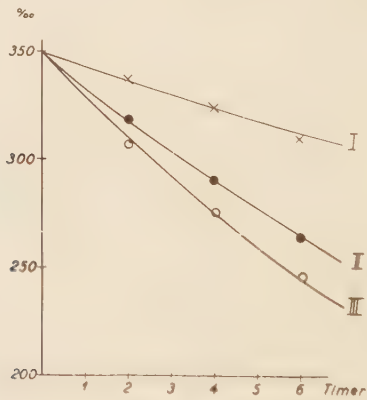


Fig. 12.

Faldet i reticulocytmængden gennem forsøgsperioden. De optrukne linier viser det beregnede fald efter den fundne modningskonstant.

I Saltvand.

II Menneskeplasma.

III 1 % Hepsol fortior.

Abscisse: Tid i timer. Ordinát: Reticulocyt ‰

Resumé:

Ved udarbejdelsen af de fundne variationer af reticulocyt-mængden viste det sig, at den hastighed, hvormed svindet af reticulocyterne fandt sted, lod sig udtrykke gennem den for den monomolekylære reaktions hastighedsligning gældende konstant.

Undersøgelserne over reticulocytmodningen viste, at der var to faktorer, der gjorde sig gældende, dels den spontane modning, der er betinget af modningsstoffer i selve blodlegemerne, dels den modning, der er betinget af stoffer, der findes i de vædske, hvori blodlegemerne opslemmes.

Den spontane modning er uafhængig af reticulocyt-mængden hos det enkelte dyr, men varierer fra dyr til dyr. Den modning, der er betinget af mængden af modningsstoffer i den vædske, hvori blodlegemerne opslemmes, er ligeledes uafhængig af reticulocyt-mængden hos det enkelte dyr, men varierer ogsaa fra dyr til dyr, hvorfor man har valgt at indføre en standard for at faa sammenlignelige resultater, da man ikke har kunnet anvende samme dyr til samtlige forsøg. Foruden at indføre en standard har man indført en enhed, og til denne har man valgt koncentrationen af modningsstoffer i oxeplasma. Som standard har man valgt en 1 % Hepsol fortior opløsning (0-66), der indeholder 0,97 enheder.

NIENDE KAPITEL

Undersøgelser over blodets indhold af reticulocyt-modningsstoffer.

Som tidligere nævnt havde det vist sig, at dersom man opstemmede blodlegemer i plasma, kunde man ved in vitro forsøg paavise et svind af reticulocyterne, der var større, end dersom man opstemmede blodlegemerne i saltvand.

Man undersøgte derfor en del plasmata stammende dels fra mennesker, dels fra kaniner (se tabel 37, 23, kapitel XVIII og XIV), og man fandt, at der i alle plasmata var et vist indhold af modningsstoffer.

Da det havde vist sig, at der fandtes modningsstoffer i plasma, undersøgte man, om mængden af disse var ligesaa stor i serum fra samme individ. Fremgangsmaaden ved disse forsøg var følgende: fra forsøgsdyret (resp. menneske) blev der taget to portioner blod; til den ene sættes natriumcitrat (3,8 %) i forholdet 1 : 4, den anden portion fik lov at henstaa, indtil blodlegemekoaglet var begyndt at retrahere sig. Derefter centrifugeredes begge blodprøver (10 min.), og det derved vundne serum og plasma anvendtes til modningsforsøg paa den tidligere beskrevne maade.

Resultaterne fremgaar af tabel 12.

Som det vil ses, finder man en væsentlig lavere mængde modningsstof i serum end i det tilsvarende plasma, idet der ved koagulationen sker et svind paa ca. 33 %.

Da det endvidere havde vist sig, at blodlegemerne, dersom de fandtes opstemmet i fysiologisk natriumkloridopløsning, viste en svag tendens til modning, den saakaldte spontane modning, undersøgte man, om der intracellulært i blodlegemerne fandtes modningsstoffer.

Fremgangsmaaden ved denne bestemmelse var følgende:

Fra et forsøgsdyr tog man 60 ccm blod, dette blev stabiliseret med 15 ccm natriumcitrat (3,8 %). Af denne blanding tog man først 15 ccm til opsætning af modningsforsøgene, resten af blandingen centrifugeredes. Efter endt centrifugering afsugedes plasma, og der tilsattes samme mængde redestilleret vand. Efter 15 minutters henstand tilsattes nu natriumklorid, saaledes at der i vædsken var en natriumklo-

	Modningsindex
Menneskeplasma	0,77
Menneskeserum	0,54
Menneskeblodlegemesaft	0,10
Kanin, ubehandlet, 25 ‰ Ret., Plasma .	0,65
Kanin, ubehandlet, Serum	0,42
Kanin, ubehandlet, Blodlegemesaft	0,08
Kanin, behandlet, 172 ‰ Ret., Plasma ..	0,98
Kanin, behandlet, Serum	0,67
Kanin, behandlet, Blodlegemesaft	0,12

Tabel 12

viser indholdet af modningsstoffer i plasma, serum og blodlegemesaft fra kanin og menneske.

ridkoncentration paa 0,9 %, hvorefter man centrifugerede blodlegemeskyggerne ned ved ca. 20 minutters centrifugering med maximal hastighed; den derved vundne klare vædske anvendtes til modningsforsøgene.

Forsøgene viste, saaledes som det fremgaar af tabel 12, at 1) den ved hæmolysering af blodlegemer vundne vædske havde et større indhold af modningsstoffer end alm. fysiologisk saltvand, 2) mængden af modningsstoffer i den ved hæmolysering af blodlegemer vundne vædske er størst svarende til, hvor der fandtes størst koncentration i plasma.

Naar der overhovedet findes modningsstoffer i cellerne, viser dette, at modningsstofferne er i stand til at diffundere gennem blodlegememembranen; endvidere forklarer det, at man finder den spontane modning af reticulocyterne.

Resumé:

Der gøres kort rede for indholdet af modningsstoffer i plasma og serum, hvor det ses, at der findes ca. 33 % mindre modningsstof i serum end i plasma. Blodlegemesaften, vundet ved hæmolysering af blodlegemer viser, at der ogsaa intra-cellulært findes en om end ringe mængde modningsstoffer.

TIENDE KAPITEL

Undersøgelser over opbevaringstiden og opbevaringstemperaturens indflydelse paa serum's og plasma's evne til at paavirke reticulocytmodningen.

Af tekniske grunde er det ikke altid muligt straks at undersøge de tagne blodprøver; det har derfor været nødvendigt at undersøge, hvorledes blodet skulde opbevares for at faa den mindst mulige forskydning i indholdet af modningsstoffer.

Som det ses af tabel 13, har man undersøgt 1) plasma, 2) serum, 3) plasma stammende fra prøver, hvor blodlegemerne var tilstede under opbevaringen. De foretagne undersøgelser er gjort med blodprøver fra mennesker og kaniner; man har i alle forsøgene arbejdet med blod, hvis koagulation var hindret ved tilsætning af 3,8 % Natriumcitratopløsning i forholdet 1:4.

Alle undersøgelser er udført paa blodlegemer stammende fra samme kanin (148).

Ved flere overensstemmende undersøgelser af plasma opbevaret ved forskellige temperaturer, viste det sig, at medens plasma, der opbevaredes ved 37°, allerede efter 24 timers henstand havde mistet ca. 15 % af modningsevnen, var plasma ved 4° 48 timer om at naa et lignende tab af modningsstoffer. Vil man opbevare plasma til senere undersøgelser, bør dette altsaa ske i isskab.

Medens de forandringer, der indtræder med plasma under opbevaring ikke er betydelige, naar opbevaringstemperaturen er lav, saa ses der store forandringer i plasma fra opbevaret blod, d. v. s. frisktaget blod + citrat. Naar dette blod op-

	Temperatur	Henstandstid		
		0 Timer	24 Timer	48 Timer
Menneske (♂)				
Plasma	4°	0.77	0.70	0.66
Plasma	37°			
Fuldblod (plasma) . . .	4°	0.77	0.46	0.29
Fuldblod (plasma) . . .	37°			
Serum	4°	0.54	0.44	0.32
Menneske (♀)				
Plasma	4°	0.76	0.70	0.68
Plasma	37°	0.76	0.65	0.62
Fuldblod (plasma) . . .	4°	0.76	0.41	0.32
Fuldblod (plasma) . . .	37°	0.76	0.27	0.13
Serum	4°	0.50	0.42	0.34
Serum	37°	0.50	0.32	0.23
Kanin, ubeh. (25 ‰ Ret.)				
Plasma	4°	0.65	0.59	0.55
Plasma	37°	0.65	0.56	0.52
Fuldblod (plasma) . . .	4°	0.65	0.40	0.32
Fuldblod (plasma) . . .	37°	0.65	0.25	0.12
Serum	4°	0.42	0.35	0.30
Kanin, beh. (172 ‰ Ret.)				
Plasma	4°	0.98	0.90	0.85
Plasma	37°	0.98	0.84	0.76
Fuldblod (plasma) . . .	4°	0.98	0.40	0.26
Fuldblod (plasma) . . .	37°	0.98	0.17	0.08
Serum	4°	0.67	0.58	0.48
Serum	37°	0.67	0.47	0.31

Tabel 13.

Opbevaringstemperaturens indflydelse paa forandringer i modningsindex.

bevares ved 4° , ses der en forandring i det derfra vundne plasma, idet indholdet af de reticulocytnodnende stoffer reduceres med ca. 40 % efter 24 timers henstand.

Opbevares blodet ved 37° , er de forandringer, der findes i plasmaet, endnu betydeligere, idet man finder, at de faktorer, der er medvirkende ved reticulocytnodningen, efter 24 timers henstand reduceres med ca. 60 %, hvilket er ligesaa meget som man finder efter 48 timers henstand ved 4° (sml. tabel 15).

Medens man som nævnt kun finder mindre ændringer i plasmaværdierne hos normale kaniner, naar totalblod opbevares ved lav temperatur, ses det, at hos en kanin, der er anæmiseret, og som følge deraf har et højt reticulocyttal, er ændringen i plasma fra totalblod, der har staaet nogen tid, betydelig større end hos den normale.

Undersøger man derimod plasma fra en ubehandlet kanin, viser det sig, at skønt den har en højere reticulocytmenge end et normalt menneske, vil ændringen i plasma fra opbevaret blod være mindre end hos mennesket.

Serums værdier er ca. 33 % lavere end de tilsvarende værdier for plasma. Serumværdierne er ligeledes afhængige af ved hvilken temperatur, det er opbevaret, men ogsaa her gælder det, at det mindste svind finder sted ved den laveste opbevaringstemperatur; og at det svind, der finder sted ved opbevaringen af serum ved 37° i 24 timer er lig svindet af modningsstoffer i serum opbevaret ved 4° i 48 timer.

Resumé:

Indholdet af modningsstoffer i plasma nedsættes betydeligt ved opbevaring af blodet med blodlegemer i, og nedgangen synes desto større, jo flere reticulocyter, der findes i blodprøven. Ved koagulation af blodet forsvinder ca. $\frac{1}{3}$ af modningsstofferne.

Ved henstand af plasma fremkommer kun en ringe nedgang i modningsstoffer. Plasma, der er opbevaret 24 timer ved 4° , er praktisk talt uforandret, mens det ved 37° forandres ligesaa meget som ved 4° i 48 timer.

ELVTE KAPITEL

Temperaturens indflydelse paa reticulocytmodningen in vitro.

Som det fremgaar af tidligere undersøgelses resultater, spiller temperaturen en stor rolle ved in vitro-forsøg over reticulocytmodning. Da de fleste tidligere undersøgere kun har undersøgt forholdene ved legemstemperatur (37°), 10° og 4° , har man i det her foreliggende arbejde undersøgt forholdene ved flere forskellige temperaturer: 40° — 37° — 30° — 20° — 10° — 4° .

Undersøgelserne er alle foretaget paa samme kanin, det vil sige, en kanin, der gennem længere tid havde været anæmiseret, og hvis reticulocyttal kun varierede mellem 180 — 220 ‰. Ved at anvende den samme kanins blodlegemer udelukker man individuelle variationer.

Medens saaledes blodlegemerne til undersøgelserne stammer fra samme dyr, er dette ikke tilfældet med de anvendte plasmaprøver, idet man, hvor det drejer sig om ubehandlede dyr, har maattet anvende nye dyr til hvert forsøg. Prøverne »Kanin behandlet« stammer fra samme dyr, der har været behandlet gennem lang tid, og som følge deraf ikke udviser store variationer i mængden af modningsstoffer (se senere).

Resultaterne viser som venteligt intet særligt afvigende fra de tidligere undersøgelser, men de viser, at modningen af reticulocyterne hurtigst finder sted omkring legemstemperaturen, og at en nedsættelse af forsøgstemperaturen blot faa grader herfra nedsætter modningshastigheden betydeligt. En væsentlig forøgelse af temperaturen virker ødelæggende paa erythrocyterne, saaledes at der indtræder hæmolyse.

Sættes den fundne modningskonstant ved 40° til 100 % for alle de undersøgte vædske, ser man ved at udregne de procentiske fald af modningskonstanten, at de er ens for alle de undersøgte vædske, med undtagelse af saltvandet, men dertil er at sige, at udviklingen af reticulocyterne i saltvand

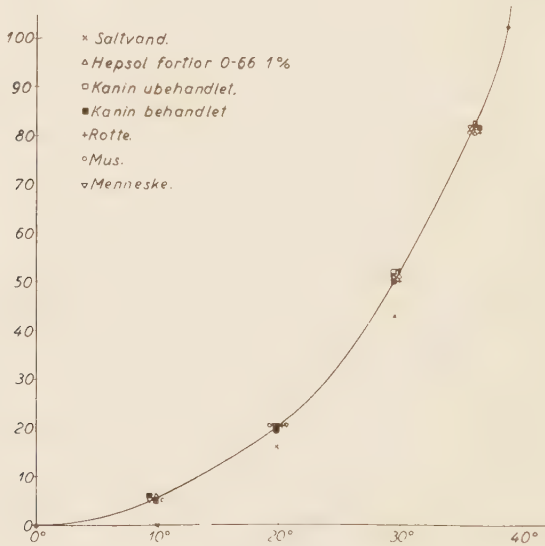


Fig. 13.

Reticulocytmodningens afhængighed af temperaturen.
Modningskonstanten ved $40^\circ = 100\%$.

er saa langsom, at det er noget usikkert at bestemme variationerne her.

Som det vil ses af fig. 13, faar man, naar temperatur og modningskonstant sættes i indbyrdes relation en kurve, der ved første øjekast har en vis lighed med de kurver, man finder ved processer, der følger den af vant' Hoff (1884) angivne formel:

$$V_{t+10} = V_t \cdot Q_{10}$$

hvor Q_{10} er en konstant for den paagældende reaktion. For de fleste kemiske processer er Q_{10} beliggende mellem 2 og 3,

hvilket vil sige, at processens hastighed fordobles eller indtil tredobles ved en temperaturstigning paa 10° .

Temperatur	4°	10°	20°	30°	37°	40°
Saltvand	0	0.0000	0.0016	0.0040	0.0074	0.0095
Hepsol fortior						
0-66, 1 % ..	0	0.0022	0.0071	0.0181	0.0286	0.0361
Kanin, ubehand-						
let	0	0.0016	0.0061	0.0149	0.0244	0.0301
Kanin, behand-						
let	0	0.0020	0.0069	0.0179	0.0284	0.0356
Rotte	0	0.0016	0.0061	0.0157	0.0244	0.0309
Mus	0	0.0013	0.0049	0.0119	0.0187	0.0236
Menneske	0	0.0016	0.0059	0.0148	0.0241	0.0301
Saltvand	0	0	16	42	80	100
Hepsol fortior						
0-66, 1 % ..	0	6	20	50	79	100
Kanin, ubehand-						
let	0	5	20	51	81	100
Kanin, behand-						
let	0	6	19	49	80	100
Rotte	0	5	20	49	79	100
Mus	0	5	20	50	79	100
Menneske	0	5	20	51	80	100

Tabel 14

viser variationen i modningskonstanten under varierende temperaturer. Øverste halvdel viser variationerne i de abs. værdier; nederste halvdel viser variationerne beregnet ud fra modningskonstanten ved $40^{\circ} = 100\%$.

Beregnes Q_{10} af de fundne forsøgsresultater (tabel 14), faar man værdier, der indenfor samme temperaturinterval er nogenlunde ens (tabel 15), men varierende fra temperaturinterval til temperaturinterval.

Q_{10}	10^0-20^0	20^0-30^0	30^0-40^0
Saltvand		2,50	2,37
Hepsol fortior 0-66, 1 % ..	3,22	2,55	2,00
Kanin, ubehandlet	3,82	2,45	2,01
Kanin, behandlet	3,45	2,60	1,98
Rotte	3,80	2,58	1,97
Mus	3,77	2,43	1,98
Menneske	3,69	2,51	2,03

Tabel 15.

Variationerne i Q_{10} beregnet efter *van't Hoff's* formel udfra de i tabel 14 angivne resultater.

Naar Q_{10} varierer indenfor den enkelte gruppe, saaledes at der ikke kan være tale om en konstant faktor, maa dette tydes, som om den proces, der er tale om, modningsprocessen, er en sammensat proces.

Resumé:

En nedsættelse af forsøgstemperaturen giver et fald i modningshastigheden. Dette fald er procentisk ens, naar man anvender samme blodlegemer til forsøgene og uafhængigt af koncentration og oprindelse af de tilsatte modningsstoffer.

TOLVTE KAPITEL

Reticulocytmodningens afhængighed af tilsatte modningsstoffer og disses mængde og koncentration.

Da man havde undersøgt temperaturens indflydelse paa reticulocytmodningen, gik man over til at undersøge, hvilken indflydelse den tilsatte mængde af modningsstoffer havde paa modningshastigheden.

Ved at variere koncentrationen af Hepsol fortior viser det sig, som det fremgaar af tabel 17, at modningshastigheden varierer nogenlunde proportionalt med koncentrationen.

Af tabellen fremgaar det endvidere, at der er en øvre grænse for den koncentration, man kan anvende af Hepsol fortior til modningsforsøgene, idet allerede en 4 % opløsning giver hæmolyse ved længere henstand. Efter kun 2 timers henstand er der endnu ingen hæmolyse, men allerede efter 4 timer er der begyndende hæmolyse, og efter 6 timer er ændringen i erytrocyttallet saa stort, at man ikke med nogenlunde rimelighed kan anvende de fundne værdier til en beregning. Stiger man yderligere med koncentrationen, er de forandringer, der sker med det opbevarede blod, saa betydelige, at man overhovedet ikke kan anvende de fundne værdier.

Medens modningshastigheden som nævnt er proportional med koncentrationen af den anvendte leverextrakt (modningsstoffer) viste det sig, at den indenfor vide grænser er uafhængig af den tilsatte mængde leverextrakt, naar dennes koncentration holdes uforandret, jvfr. tabel 16.

	1 ccm	2 ccm	4 ccm	6 ccm	8 ccm	10 ccm
Saltvand	0.0115	0.0115	0.0117	0.0112	0.0114	0.0114
Hepsol fortior						
0—66, 1 %	0.0271	0.0269	0.0264	0.0270	0.0269	0.0266
Kaninplasma, ube-						
handlet	0.0234	0.0229	0.0225	0.0228	0.0232	0.0230
Menneskeplasma .	0.0229	0.0236	0.0239	0.0240	0.0237	0.0236
Saltvand	0.0088	0.0093	0.0095	0.0094	0.0090	0.0096
Hepsol fortior						
0—66, 1 %	0.0238	0.0243	0.0239	0.0246	0.0237	0.0251
Kaninplasma, be-						
handlet	0.0234	0.0237	0.0230	0.0233	0.0237	0.0239
Kaninplasma, ube-						
handlet	0.0200	0.0205	0.0206	0.0203	0.0203	0.0204
Menneskeplasma .	0.0206	0.0209	0.0208	0.0209	0.0205	0.0207
Saltvand	0.0093	0.0101	0.0097	0.0096	0.0099	0.0100
Hepsol fortior						
0—66, 1 %	0.0271	0.0279	0.0281	0.0275	0.0279	0.0283
Kaninplasma, be-						
handlet	0.0265	0.0274	0.0276	0.0270	0.0273	0.0274
Kaninplasma, ube-						
handlet	0.0223	0.0233	0.0229	0.0226	0.0230	0.0232
Menneskeplasma						
(♀) m. ads. . . .	0.0263	0.0274	0.0273	0.0271	0.0272	0.0271
Menneskeplasma						
(♀) m. abs. . . .	0.0232	0.0236	0.0233	0.0233	0.0236	0.0235

Tabel 16

viser ændringerne i modningskonstanten, naar rumfanget af vædsken
 andres, men koncentrationen holdes konstant.

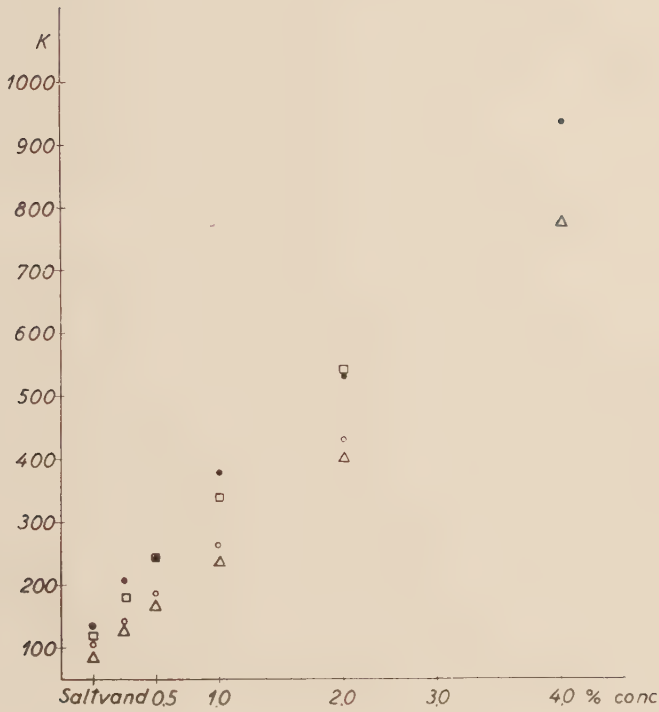


Fig. 14.

Modningskonstantens afhængighed af koncentrationen af modningsstoffer.
 Abscisse: Koncentration af Hepsol fortior. Ordinát: Modningskonstant.

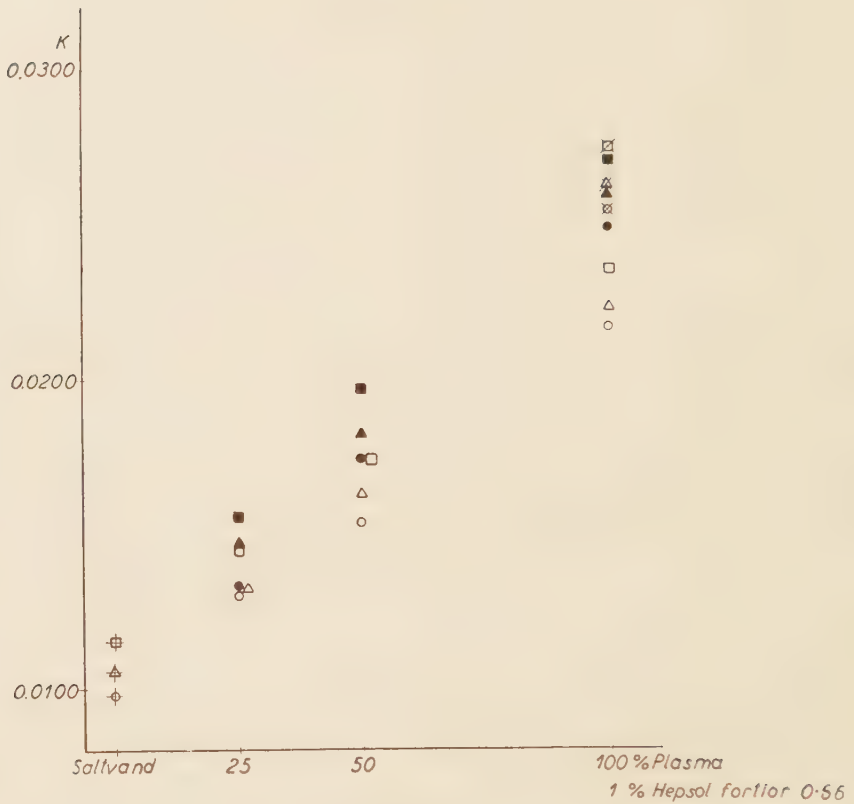


Fig. 15.

Modningskonstantens afhængighed af koncentrationen af modningsstoffer.

- | | | |
|--------------------|------------|--------------------------|
| □ ubehandlet kanin | ⊕ saltvand | ⊠ Hepsol fortior 0.66 1% |
| ■ behandlet kanin | ⊖ saltvand | ⊡ Hepsol fortior 0.66 1% |
| △ ubehandlet kanin | ⊙ saltvand | ⊣ Hepsol fortior 0.66 1% |
| ▲ behandlet kanin | | |
| ○ ubehandlet kanin | | |
| ● behandlet kanin | | |

Abscisse: Koncentration af modningsstoffer.
Ordinat: Modningskonstant.

Salt- vand	Hepsol fortior 0—66 2 ccm i følgende koncentrationer					
	0.25 ‰	0.50 ‰	1 ‰	2 ‰	4 ‰	8 ‰
0.0136	0.0204	0.0243	0.0381	0.0534	0.0943	Hæmolyse
0.0103	0.0146	0.0190	0.0264	0.0436	(Hæm.)	—
0.0084	0.0128	0.0168	0.0239	0.0406	0.0786	—
0.0121	0.0180	0.0243	0.0341	0.0543	(Hæm.)	—

Salt- vand	Hepsol fortior 0—66 1.0 ‰	Plasma fra ubehandlet kanin, 2 ccm i føl- gende koncentrationer			Plasma fra behandlet kanin, 2 ccm i føl- gende koncentrationer		
		25 ‰	50 ‰	100 ‰	25 ‰	50 ‰	100 ‰
0.0098	0.0253	0.0130	0.0154	0.0216	0.0133	0.0174	0.0248
0.0116	0.0274	0.0145	0.0175	0.0235	0.0156	0.0197	0.0270
0.0106	0.0262	0.0134	0.0163	0.0223	0.0146	0.0182	0.0259

Tabel 17

viser ændringerne i modningskonstanten ved ændring af
koncentrationen af modningsstofferne.

Resumé:

Den fundne modningskonstant er proportional med koncentrationen af modningsstoffer, men uafhængig af den anvendte absolutte mængde af modningsstoffer.

TRETTENDE KAPITEL

Undersøgelser over forskellige stoffers indflydelse paa reticulocytmødningen.

Under modningsforsøg med reticulocyter in vitro har *Heath & Daland* (1931) undersøgt adskillige stoffer, organiske-uorganiske, syrer-baser, stærke-svage elektrolyter med henblik paa disse stoffers indvirkning paa reticulocyternes farvelighed, idet de mente, at ændringen i reticulocyt-mængden skyldtes en ændring i cellernes modtagelighed for farvestoffer og ikke en udvikling af disse.

De har undersøgt reticulocyternes forhold, efter at de i 15 minutter havde været paavirket af de forskellige stoffer, idet de til 0,2 ccm blod satte 0,4 ccm af deres forskellige opløsninger. Som farvemiddel anvendte de en opløsning af brillantkresylblaat.

I deres undersøgelsesmateriale har de blandt andet ogsaa anvendt leverpræparater, saavel præparater, der klinisk havde vist sig at være uvirksomme overfor anæmia pernicioza, som præparater, der var virksomme i behandlingen af den ovenfor nævnte anæmiform, og de fandt ingen relation mellem disse provers aktivitet overfor anæmia pernicioza og ændringen i reticulocytfarvningen i den korte forsøgsperiode.

Som følge af leverextrakternes rige indhold af aminosyrer, undersøgte de derefter nogle af disse syrer forhold til reticulocytfarvningen. Ved disse undersøgelser fandt de, at alamin, glyocol og leucin hæmmede farvningen af reticulocyterne i samme grad som de anvendte leverpræparater, medens cystin kun hindrede farvningen lidt. De dibasiske aminosyrer: glutaminsyre og asparaginsyre virkede ligeledes stærkt hæm-

mende paa farvningen, hvad der ogsaa var tilfældet med forskellige kulhydratopløsninger.

Undersøgelser over metalsalte viser efter *Heath & Daland*, at disse ogsaa er i stand til at hæmme reticulocyternes farvemodtagelighed.

Organextrakter fra for eksempel gll. suprarenales havde en lignende virkning som de undersøgte leverextrakter.

Alle disse undersøgelser synes at vise, at disse stoffer er i stand til at hæmme reticulocyternes farvemodtagelighed, uden at de ødelægger cellestrukturen, hvorimod stærke syrer og lignende vanskeligt lader sig prøve, idet der indtræder hæmolyse i prøverne.

Heath & Daland gør opmærksom paa, at dersom man lader de undersøgte stoffer paavirke reticulocyterne gennem længere tid, for eksempel en time, vil man genfinde samme reticulocyt-mængde, som man havde ved forsøgets begyndelse, og først efter lang tids forløb finder de et svind i reticulocyt-mængden.

Paa grundlag af disse iagttagelser af *Heath & Daland* vedrørende reticulocyternes evne til at optage farvestofferne, har man i det her foreliggende arbejde undersøgt de forskellige aminosyrers paavirkning af reticulocyterne ved in-vitro forsøg, idet man vilde undersøge, om aminosyrerne havde indflydelse paa reticulocyternes modning, eller om det kun drejede sig om en virkning paa reticulocyternes modtagelighed for farvestoffer. Man valgte dog ikke at arbejde med saa store koncentrationer som *Heath & Daland*, men arbejdede med aminosyrekoncentrationer paa 0,1 ‰.

Resultaterne fremgaar af tabel 18. Disse viser, at det er ret smaa værdier, man finder for modningsindex for de forskellige aminosyrer, ligesom det er vanskeligt at sige noget bestemt om, hvilke der er de stærkest virkende, men det maa dog fremhæves, at man finder de laveste værdier blandt mono-amino-mono-karbonsyrerne, hvor *Heath & Daland* fandt en stor evne til at hindre reticulocytfarvningen ved store koncentrationer. Blandt de stoffer, der har størst virkning, er tyrosin, der efter *Jacobson* (1935) findes i leverextrakterne i rigelige mængder. Man har ogsaa ligesom *Heath & Daland* prøvet forskellige leverpræparater, saavel aktive som inaktive

	Modnings- index i 0.1 $\frac{0}{00}$ opløsning
Monoamino-Monocarbonsyrer.	
Glyocol, aminoeddikesyre, $C_2H_5NO_2$	0.056
d-Alanin, α -aminopropionsyre, $C_3H_7NO_2$	0.062
d-Valin, α -amino isovalerianesyre, $C_5H_{11}NO_2$	0.067
l-Leucin, α -amino-isocapronsyre, $C_6H_{13}NO_2$	0.057
Monoamino-Dicarbonsyrer.	
l-Asparaginsyre, amino ravsyre, $C_4H_7NO_4$	0,072
d-Glutaminsyre, α -amino-glutarsyre, $C_5H_9NO_4$	0,091
Diamino-Monocarbonsyrer.	
d-Arginin, α -amino-d-guanidinovalerianesyre, $C_6H_{14}N_4O_2$	—
d-Argininnitrat, $C_6H_4N_4O_2$, HNO_3	0.081
d-Lysin, α - ϵ -diaminocapronsyre, $C_6H_{14}N_2O_2$	
d-Lysindichlorhydrat, $C_6H_{14}N_2O_2$, $2HCl$	0,063
Svovlholdige aminosyrer.	
l-Cystin, dicystein, di-(β -tio- α -aminopropionsyre) $C_6H_{12}N_2O_4S_2$	0.051
Aromatiske aminosyrer.	
l-Fenylalanin, α -amino- β -fenylpropionsyre, $C_9H_{11}NO_2$	0.068
l-Tyrosin, β -paraoxy-fenyl- α -aminopropionsyre, $C_9H_{11}NO_3$	0.082
Heterocycliske aminosyrer.	
l-Histidin, α -amino- β -imidazolpropionsyre, $C_6H_9N_3O_2$	
l-Histidinmonochlorhydrat, $C_6H_9N_3O_2$, HCl	0.074
l-Prolin, α -pyrrolidincarbonsyre, $C_5H_9NO_2$	0.072
l-Tryptofan, α -amino- β -indol-propionsyre, $C_{11}H_{12}N_2O_2$	0.072
Dijod-Tyrosin, $C_9H_9N_jO_3$, 3-5	0.082
Tyraminchlorhydrat, $C_6H_{11}NO$, HCl	0.078

Tabel 18.

overfor anæmia perniciosa. Herved fandt man, at de aktive virker accelerende paa reticulocytmodningen in vitro, medens de præparater, man specielt har fremstillet som inaktive,

	0.1 ‰	0.5 ‰	1.0 ‰	2.0 ‰	4.0 ‰
Glycocol	0.056		0.136		0.193
	0.062				
	0.054	0.104	0.140	0.172	0.199
	0.058				
	0.058	0.104	0.138	0.172	0.196
d-Alanin	0.068	0.138	0.184	0.223	0.258
	0.062				
	0.066		0.177	0.229	
	0.065	0.138	0.181	0.226	0.258
l-Tyrosin	0.082	0.163	0.248	0.326	
	0.084				
	0.079		0.220		
	0.083				
	0.086	0.166	0.239	0.320	0.382
	0.082				
	0.082	0.165	0.236	0.323	0.382

Tabel 19.
Modningsindex' afhængighed af koncentrationen af den
anvendte aminosyre.

ikke var i stand til at paavirke reticulocytmodningen kende-
ligt.

Som tidligere nævnt er der til fastlæggelsen af enheden for modningsindex valgt oxeplasma (side 75). Til de daglige undersøgelser har vi som omtalt benyttet en fortynding af en bestemt fabrikation af Hepsol fortior — fabriktionsnummer

0-66. De enkelte fabrikationsnumre af dette præparat kan dog variere en del i modningsindex, ligesom de kan afvige betydeligt fra leverextrakter af anden oprindelse. Det vil derfor være hensigtsmæssigt, om man havde en standard, som kunde fremstilles ved opløsning af et kemisk veldefineret stof. Et saa-

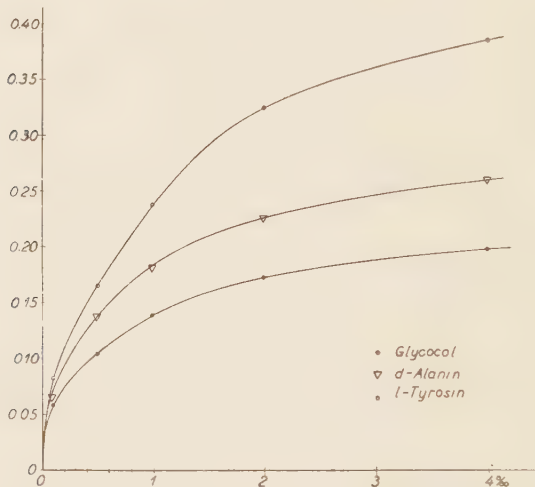


Fig. 16.

Modningsindex for forskellige koncentrationer af aminosyrer.
Abscisse: Koncentration af aminosyrer. Ordinat: Modningsindex.

dant har man i tyrosin. Det er ganske vist en ulempe, at der ikke er proportionalitet mellem koncentrationen af tyrosin og modningsindex (fig. 16), saaledes som tilfældet er for leverextrakt (fig. 14). Man maa derfor gaa ud fra en bestemt koncentration af tyrosin, og ud fra de vundne resultater synes det rimeligt at anvende en opløsning paa 1^o tyrosin, som efter de her vundne resultater har en modningsindex paa 0,24. Dette tal er saa lavt, at bestemmelsen er mindre nøjagtig, hvorfor man staar sig ved at indstille en bestemt fortynding af et eller andet leverextrakt overfor en 1^o tyrosinopløsning og saa benytte denne leverextrakt som standard i løbende undersøgelser.

Resumé:

Ved undersøgelser over forskellige aminosyrers indflydelse paa reticulocytmødningen viste det sig, at de fleste kendte aminosyrer havde en vis om end moderat evne til at virke accelererende paa reticulocytmødningen. Man har overalt arbejdet med en aminosyrekoncentration paa $0,1 \text{ ‰}$, hvilket nogenlunde svarer til aminosyrekoncentrationen i blodet under normale forhold. Først med større koncentrationer af aminosyrerne faas en kendelig virkning, saaledes at man for eksempel finder, at en tyrosinopløsning paa 1 ‰ har en modningsindex paa 0,24. Man kan altsaa anvende en saadan opløsning til standard, men det er ikke tilraadeligt, da fejlen paa de smaa afvigelser er betydeligt større, end dersom man anvender stoffer, der frembringer en hurtigere variation af reticulocyt mængden.

TREDIE AFSNIT

FJORTENDE KAPITEL

Variationer i plasma's modningsindex hos forskellige dyrearter.

Da det er velkendt, at man indenfor de forskellige dyrearter finder vekslende antal af reticulocyter i det cirkulerende blod, har man udfra de iagttagelser, man har gjort med de anvendte forsøgskaniners indhold af modningsstoffer i plasma og tilsvarende reticulocytmenge foretaget en række undersøgelser over relationen mellem mængden af reticulocyter i det cirkulerende blod og mængden af modningsstoffer i plasma hos en række dyrearter.

I det efterfølgende skal der gøres rede for de variationer, man finder indenfor nogle forskellige dyregrupper og for den individuelle variation indenfor arterne. Man har valgt kun at anvende dyr, der objektivt gjorde et sundt indtryk, og hvor man fandt et blodbillede, der svarede til de i litteraturen angivne normaltal.

Gnaverne er den bedst undersøgte dyregruppe, og talrige normaltal for disse dyr findes i litteraturen, bl. a. *Donaldson* (1924), *Klieneberger-Carl* (1927) og *Jaffe* (1931).

Undersøgelser over blodbilledet hos vore husdyr er ikke slet saa talrige; i det her foreliggende arbejde er som basis for bedømmelsen af blodbilledet brugt værdier angivet af *D. Wirth* (1931), idet han i sit arbejde har søgt at samle størstedelen af de hidtil angivne værdier for normaltal for vore husdyr.

De undersøgte dyrearter er Mus (10), Rotter (10), Marsvin (11), Kaniner (15), Faar (2), Geder (7), Hunde (9), Katte (6), Svin (8), Heste (8), Køer (11) og Høns (6).

Mus.

Til forsøgene anvendtes almindelige hvide mus. Blodet til undersøgelser vandtes ved overskæring af vena cava inf., hvorefter det udstømmende blod opsugedes i en recordsprøjte indeholdende natriumcitrat. Samtidig blev der taget blod til de almindelige hæmatologiske undersøgelser. Trods det, at

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	82	8,92	7640	31	0,60
2	89	9,14	10560	39	0,54
3	98	9,76	8280	36	0,57
4	91	9,31	10240	38	0,57
5	93	9,43	6680	40	0,53
6	87	8,99	9360	36	0,58
7	85	8,83	7920	37	0,55
8	95	9,26	11200	32	0,60
9	93	9,34	9840	37	0,54
10	84	9,12	10600	34	0,58

Tabel 20.
Blodundersøgelser hos mus.

musen er et lille dyr, lykkedes det paa denne maade at faa tilstrækkelige mængder blod til undersøgelserne.

Resultaterne af undersøgelserne fremgaar af tabel 20 og fig. 17. Det ses heraf, at der findes en høj reticulocytprocent, men en lav modningsindex.

Rotte.

Da det viste sig vanskeligt at faa tilstrækkelig store mængder blod ved hjertepunktur paa rotter, blev blodet her, ligesom hos musene, taget fra vena cava inf., efter at dyret var bragt i dyb æternarkose, og forreste bugvæg var klippet op.

Undersøgelsesresultat fremgaar af tabel 21 og fig. 18. Rottens plasma indeholder betydelige mængder af de stoffer,

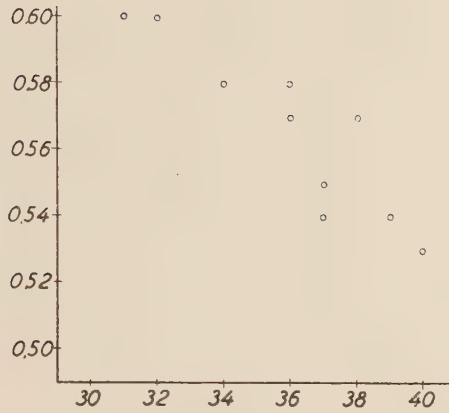


Fig. 17.

Modningsindex hos mus.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

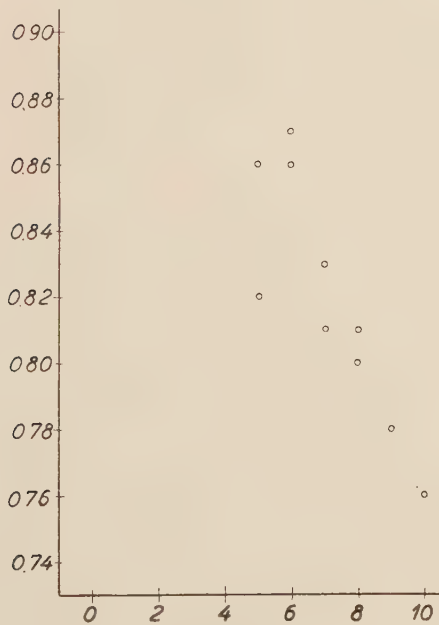


Fig. 18.

Modningsindex hos rotter.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

der betinger modningen af reticulocyterne, samtidig med at der i det cirkulerende blod kun findes en ringe mængde reticulocyter.

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	88	8,49	9840	6	0,86
2	92	7,23	11200	8	0,81
3	86	8,24	14840	8	0,80
4	89	8,92	10400	9	0,78
5	87	9,26	8840	7	0,83
6	92	9,97	13280	5	0,82
7	89	10,12	10800	7	0,81
8	94	9,14	13880	5	0,86
9	87	9,66	9880	10	0,76
10	82	8,91	10400	6	0,87

Tabel 21.
Blodundersøgelser hos rotter.

Marsvin.

Blodet til disse undersøgelser blev taget ved hjertepunktur paa unarkotiserede marsvin. Det lykkedes paa denne maade at tage ca. 4 ccm blod fra dyrene, der taalte indgrebet godt.

Samtidig med denne blodtagning blev der taget blod til de almindelige hæmatologiske undersøgelser, dette blods koagulation blev hindret med krystallinsk natriumoxalat.

Efter centrifugering af blodet afpipetteredes plasmamængden, og denne tilsattes de vaskede kaninblodlegemer, hvorefter modningsforsøgene foretoges som beskrevet.

Resultaterne fremgaar af tabel 22 og fig. 19. Disse viser, at der hos marsvinet findes en betydelig mindre mængde af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne end hos rotten. Samtidig ses det ligesom hos musen, at man svarende til de lave modningsindices finder høje reticulocytværdier.

No.	Hgbl. ‰	Erytrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	82	5,12	8800	45	0,48
2	80	4,98	8640	38	0,52
3	81	4,90	10200	46	0,48
4	79	5,16	9560	52	0,45
5	85	4,69	9660	44	0,50
6	92	5,83	9200	52	0,43
7	81	4,82	8960	46	0,47
8	81	4,65	10460	40	0,52
9	83	4,79	10280	48	0,44
10	87	5,07	9640	39	0,54
11	89	5,38	11680	43	0,48

Tabel 22.
Blodundersøgelser hos marsvin.

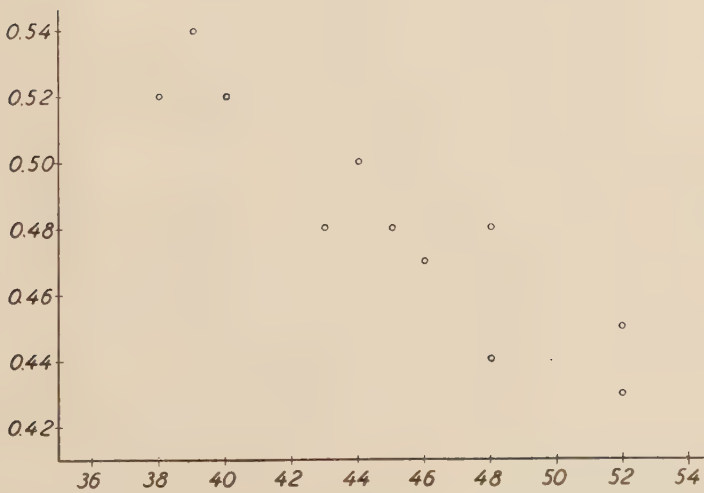


Fig. 19.

Modningsindex hos marsvin.

Abcisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

Kaniner.

Blodet til disse undersøgelser er som allerede nævnt taget ved hjertepunktur (se side 23), medens de almindelige hæmatologiske undersøgelser blev gjort paa øreblod.

Indholdet af modningsstoffer i plasma hos de ubehandlede kaniner er temmelig varierende, men man ser, ligesom hos de andre gnavere, at hvor man finder en høj reticulocytprocent, finder man en lav modningsindex, og at omvendt en høj modningsindex følges med en lav reticulocytprocent.

Resultaterne fremgaar af tabel 23 og fig. 20.

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	88	4,96	9880	28	0,69
2	92	5,12	12040	23	0,73
3	89	4,87	8260	25	0,69
4	80	5,12	10680	24	0,72
5	89	5,46	11560	30	0,66
6	80	4,83	9280	32	0,63
7	80	4,64	8220	28	0,70
8	85	5,03	11460	20	0,77
9	79	4,73	7880	26	0,70
10	82	5,23	9860	19	0,77
11	81	4,93	8920	23	0,74
12	87	4,74	10880	29	0,66
13	88	5,36	7620	27	0,68
14	95	5,81	8280	21	0,78
15	83	5,22	8040	26	0,71

Tabel 23.
Blodundersøgelser hos kaniner.

Faar og Geder.

Efter rasering af haarbeklædningen paa halsen svarende til vena jugularis tages blodet ved almindelig venepunktur.

Da det ikke er lykkedes at opdrive mere end 2 faar, er

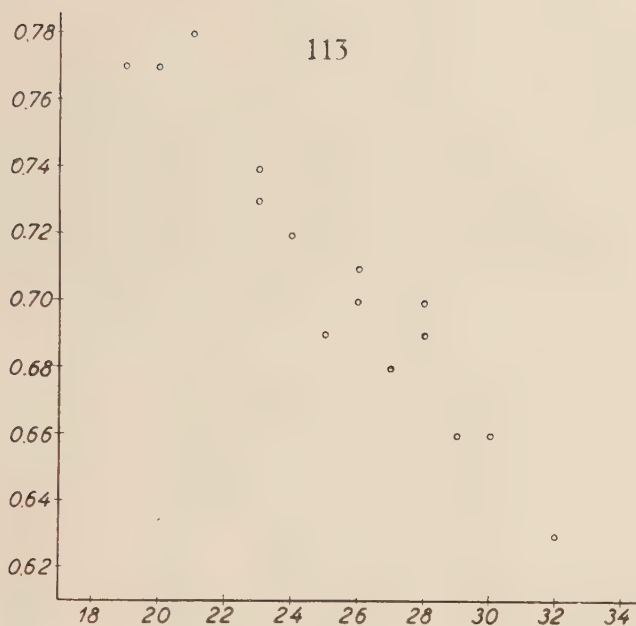


Fig. 20.

Modningsindex hos kaniner.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

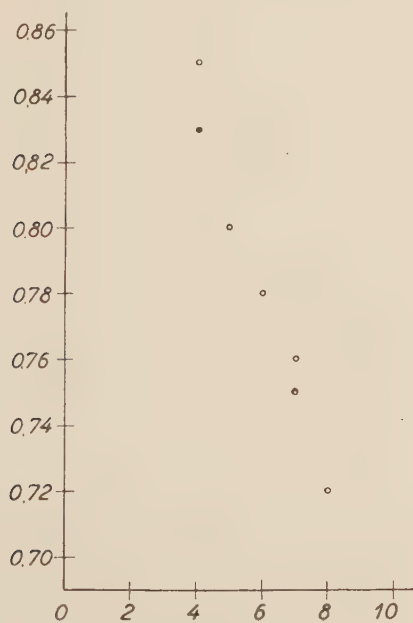


Fig. 21.

Modningsindex hos geder.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

undersøgelserne paa disse dyr opført i tabel sammen med undersøgelserne paa gederne. Resultatet fremgaar af tabel 24 og fig. 21 og 22.

Her ser man ligeledes den nøje sammenhæng mellem reticulocytprocent og modningsindex, idet blod med høj reticulocytprocent viser lav modningsindex og omvendt.

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
F a a r					
1	71	9,84	9680	7	0,75
2	69	9,04	11240	9	0,72
G e d e r					
1	56	10.240	8840	7	0,76
2	61	13.670	10200	4	0,83
3	63	15.210	9880	5	0,80
4	56	11.300	13460	6	0,78
5	62	11.640	9200	4	0,85
6	68	13.160	11280	8	0,72
7	72	14.420	8840	7	0,75

Tabel 24.
Blodundersøgelser hos faar og geder.

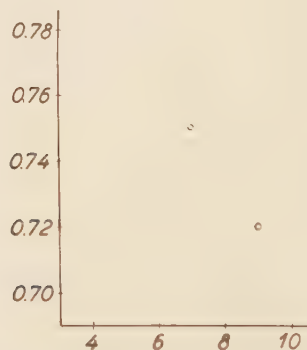


Fig. 22.
Modningsindex hos faar.
Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

Hunde.

Blodet til disse undersøgelser er taget fra vena jugularis. Straks efter blodprøvetagningen centrifugeredes blodet, og plasmaet blev afsuget og hensat i isskab i 24 timer; de fundne værdier afviger som venteligt ikke fra værdier bestemt paa frisk taget blod, de skulde variere 15 % (se side 88 ff),

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	85	7,67	8320	2	0,92
2	65	7,23	9820	2	0,90
3	79	8,16	10840	3	0,83
4	82	9,04	9040	1	0,94
5	68	7,66	8240	3	0,85
6	80	7,12	10060	2	0,91
7	72	7,89	7880	4	0,81
8	67	6,93	11260	3	0,86
9	83	8,46	8320	2	0,89

Tabel 25.
Blodundersøgelser hos hunde.

idet prøve nr. 1 stammer fra en frisk opsat prøve og de øvrige værdier fra hengemt plasma.

De undersøgte dyr varierer i alder fra $\frac{1}{2}$ —11 aar, og der saas ingen relation mellem alder og reticulocytmenge.

Resultaterne fremgaar af tabel 25 og fig. 23. Der ses her ligesom hos de andre undersøgte dyrearter, en tydelig relation mellem reticulocytmenge og modningsindex.

Katte.

Blodet til undersøgelserne af katteplasma fik man ved hjertepunktur, der paa grund af vanskeligheden ved at holde de unarkotiserede dyr, blev taget paa dyrene i kloroform-narkose.

Naar man anvendte kloroform til kattene, var det fordi disse dyr ikke taaler æternarkose, idet æter i smaa doser har en oplivende virkning. Hjertepunkturen er, ligesom paa de øvrige dyr, let at udføre, og dyrene taaler indgrebet godt.

No.	Hgbl. ‰	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	82	10,27	10240	2	0,93
2	98	9,98	9640	1	0,96
3	78	10,37	12240	2	0,91
4	91	9,71	9880	5	0,86
5	80	10,12	10260	2	0,91
6	89	9,86	10480	3	0,88

Tabel 26.
Blodundersøgelser hos katte.

Resultaterne fremgaar af tabel 26 og fig. 24. Ogsaa her ses en nøje sammenhæng mellem reticulocyttal og modningsindex.

Svin.

Umiddelbart efter nedslagtingen af svinene paa slagteriet udtømmes blodet. Noget af blodet lod man løbe ned i kolber med kendt mængde natriumcitrat, der hindrede blodets koagulation; citratmængden var afpasset saaledes, at naar kolben var fuld, var forholdet mellem blod og citrat 1:4 altsaa det samme, som man har anvendt i de øvrige forsøg.

Straks efter blodtagningen blev blodet sendt fra slagteriet til laboratoriet.

Undersøgelsesernes resultater fremgaar af tabel 27 og fig. 25. Der synes her, ligesom ved de tilsvarende undersøgelser paa andre dyrearter, at være en nøje sammenhæng mellem reticulocyt-mængden og mængden af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne.

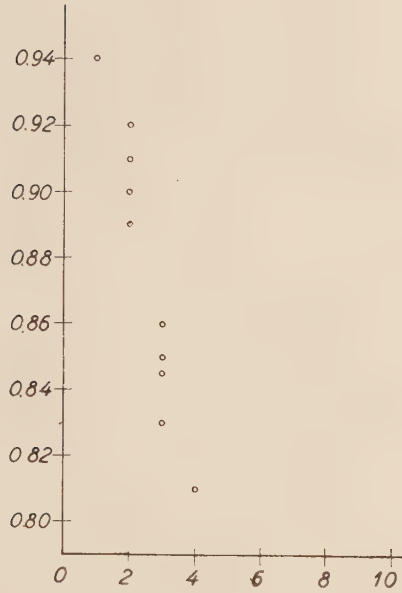


Fig. 23.

Modningsindex hos hunde.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

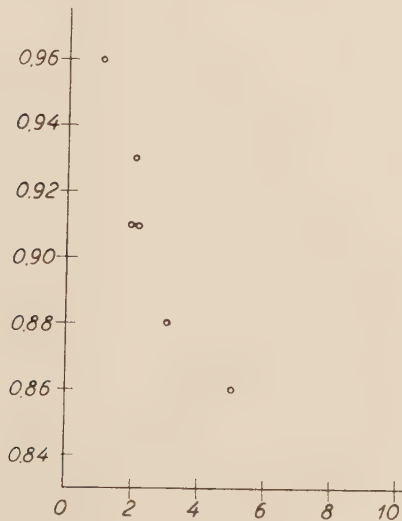


Fig. 24.

Modningsindex hos katte.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

No.	Hgbl. ‰	Erytrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	61	5,12	9040	7	0,77
2	71	6,06	10060	6	0,81
3	64	5,95	17120	7	0,77
4	68	6,14	12280	5	0,85
5	75	6,63	18440	8	0,74
6	67	6,21	15820	4	0,87
7	70	6,43	9860	6	0,82
8	74	5,98	16280	8	0,76

Tabel 27.
Blodundersøgelser hos svin.

Heste.

Blodet til disse undersøgelser blev taget fra vena jugularis efter rasering af haarene svarende til punkturstedet.

Resultaterne, som fremgaar af tabel 28 og fig. 26, viser, som ved undersøgelserne paa andre dyrearter, at til en lav reticulocytprocent svarer en høj modningsindex og omvendt.

No.	Hgbl. ‰	Erytrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	67	8,24	7280	3	0,86
2	72	9,67	8320	2	0,89
3	76	8,61	9200	2	0,92
4	66	7,87	7280	5	0,83
5	82	7,08	10240	3	0,88
6	79	8,14	8160	2	0,90
7	81	7,58	7660	2	0,91
8	75	7,98	9180	1	0,94

Tabel 28.
Blodundersøgelser hos heste.

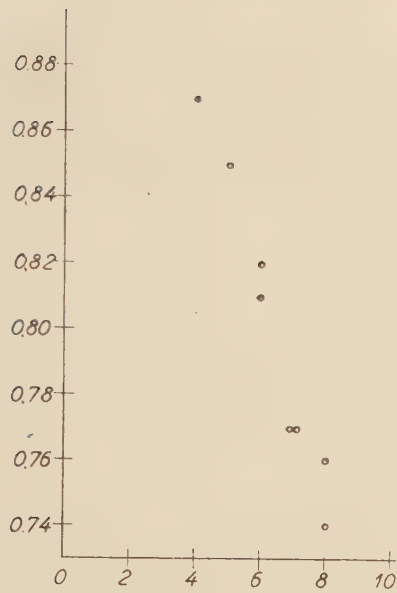


Fig. 25.

Modningsindex hos svin.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

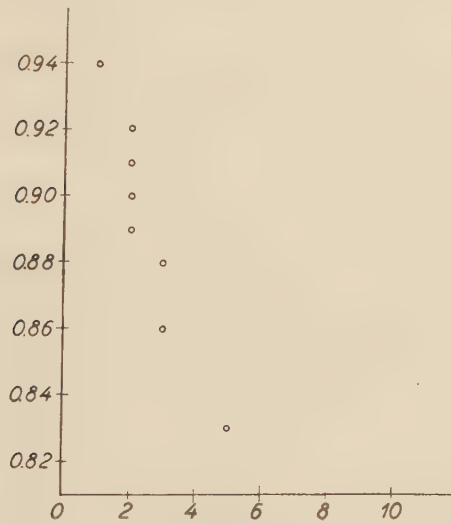


Fig. 26.

Modningsindex hos heste.

Abscisse: Reticulocyter i ‰. Ordinat: Modningsindex.

Oxe.

Blodet til disse undersøgelser blev taget straks efter nedslagtningen af dyrene paa slagteriet paa samme maade som beskrevet under forsøgene med svineblod.

Oxens blod er blandt andet karakteriseret ved, at der ikke findes reticulocyter i det. Man finder derimod en betydelig

No.	Hgbl. %	Erythrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. 0/00	Modningsindex
1	75	7,72	6040	0	1,02
2	70	7,12	11800	0	1,04
3	65	6,18	9560	0	1,02
4	73	8,02	8480	0	0,98
5	79	7,89	7260	0	0,99
6	67	6,98	8400	0	1,00
7	77	7,76	13240	0	0,99
8	82	8,33	10440	0	1,02
9	75	7,14	9680	0	1,00
10	65	6,72	8280	0	0,98
11	72	6,89	11260	0	1,02

Tabel 29.
Blodundersøgelser hos oxer.

mængde af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne, jfr. tabel 29 og fig. 27.

Udfra denne kendsgerning, at oxen ingen reticulocyter har i det cirkulerende blod, og fordi den har den størst fundne mængde af stoffer, der paavirker modningen af reticulocyter, er det, at man som nævnt har valgt at anvende oxeplasma's modningskonstant til enhed i de her angivne forsøg.

Høns.

Blodet til disse undersøgelser blev taget fra en vene, der løber paa undersiden af vingen.

No.	Hgbl. ‰	Erytrocyt. i mill.	Leucocyt.	Reticulocyt. ‰	Modningsindex
1	56	3,98	26680	1000	0,22
2	51	3,76	32480	1000	0,26
3	62	4,12	27860	1000	0,25
4	57	3,51	28980	1000	0,21
5	69	4,47	31060	1000	0,27

Tabel 30.
Blodundersøgelser hos høns.

Fugleblod er som bekendt karakteriseret ved at have 100 % kærneholdige celler. Hvorvidt disse celler kan regnes til reticulocyter eller ej, er meget omstridt, men da de lader sig farve med brilliantkresylblaat og de andre basiske anilinfarvestoffer, samtidig med, at kærnen ved en eventuel efterfarvning tegner sig tydeligt med en anden farve, har man i det her foreliggende arbejde betragtet alle cellerne som reticulocyter.

Resultaterne fremgaar af tabel 30 og fig. 28. Som venteligt finder man her en meget lav modningsindex, idet den kun udgør ca. 25 % af, hvad man finder hos oxen, der ingen reticulocyter har i det perifere blod.

Udfra den forudsætning, at alle blodlegemerne hos hønsene var reticulocyter, prøvede man at anstille modningsforsøg med hønseblodlegemer i stedet for som ellers med kaninblod-

Saltvand	Hepsol fortior 0—66, 1 ‰	Hepsol fortior 0—66, 2 ‰	Kanin, behandlet. Plasma	Tid, Timer
1000	1000	1000	1000	0
996	1000	997	1000	2
998	996	998	998	4
1000	997	996	995	6

Tabel 31.
Modningsforsøg med hønseblodlegemer
opsat efter den angivne metode.

at variationerne paa ingen maade er tilfældige, men at hos individer med et lavt reticulocyttal findes en høj modningsindex og omvendt, hvor der findes et højt reticulocyttal findes en mindre modningsindex. Denne fordeling er ganske lov-

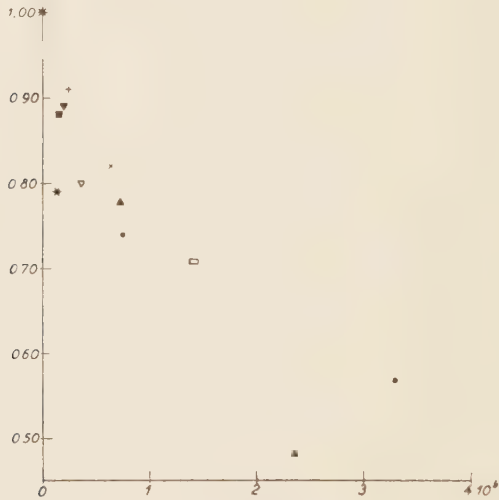


Fig. 30.

Relation mellem modningsindex og reticulocytmængde i absolutte tal hos et antal normale dyr.

Abscisse: Reticulocyter i $\frac{0}{100}$. Ordinat: Modningsindex.

- | | | | |
|--------|---------|------------|---------|
| ○ mus | × rotte | △ marsvin | □ kanin |
| ● faar | ▲ ged | ■ hund | + kat |
| ▼ hest | ⊙ oxe | ★ menneske | |

mæssig og findes hos alle de undersøgte dyrearter. Som det vil ses af fig. 29, 30, hvor gennemsnitsværdierne af reticulocytmængde og modningsindex er sat i relation til hinanden, er denne lovmæssighed ikke alene gældende indenfor den enkelte dyreart, men ogsaa fra dyreart til dyreart.

Højeste modningsindex findes hos oxen, der slet ingen reticulocyter har i det cirkulerende blod. Dette er grunden til, at indholdet af modningsstoffer i oxeplasma er valgt som

enhed for modningsindex, idet det efter de foreliggende undersøgelser synes, som om dette er den maximale koncentration man kan finde hos et udvikset dyr.

Angivelserne af reticulocyternes mængde sker normalt ved angivelse af antallet pr. 1000 erythrocyter, men dersom man alligevel har bestemt mængden af erythrocyter pr. cmm hos de enkelte dyr, kan man angive reticulocyt-mængden i absolutte værdier.

Som det ses af figurerne 17—29, kan relationen mellem den relative reticulocyt-mængde og modningsindex udtrykkes ved formelen for den rette linie: $x = ay + b$, hvor y er modningsindex og x reticulocyt-mængden, a og b konstanter. Den enkelte bestemmelse vil selvsagt afvige fra denne linie udtrykt ved ovenstaaende ligning. Jeg har nu prøvet at undersøge, hvorvidt angivelsen af reticulocyterne i absolut mængde eller i promille af erythrocyter giver samme afvigelse eller hvilken angivelse, der kan siges at være bedst. Ved anvendelse af de mindste kvadraters metode viste det sig, at afvigelserne paa x beregnet udfra y og de mulige værdier for a og b , ikke viste nogen væsentlig forskel, hvad enten man anvendte den ene eller anden metode.

Resumé:

Der er hos en række dyrearter paavist en nøje sammenhæng mellem reticulocyt-tallet i det cirkulerende blod og koncentrationen af de stoffer, der bestemmer modningen af reticulocyterne; saaledes at en høj modningsindex svarer til en lav reticulocytprocent og omvendt.

I blod, hvor der ingen reticulocyter findes, maa man regne med, at man har naaet maximum af koncentrationen af modningsstoffer, saaledes som tilfældet er hos oxen, hvorfor man har valgt dennes plasma i den normalt anvendte fortynding ($\frac{1}{5}$) som enhed for koncentrationen af modningsstoffer.

FEMTENDE KAPITEL

Undersøgelser over indholdet af modningsstoffer i plasma hos unge dyr.

Hos normale udvoksede dyr findes der en nøje relation mellem mængden af den i blodet cirkulerende reticulocyt-mængde og mængden af modningsstoffer i plasma, saaledes at der til en lav reticulocyt-mængde svarer en stor koncentration af modningsstof og omvendt. Hos de anæmiserede dyr (kaniner) fandt man derimod, at der, samtidigt med at der finder en stigning af reticulocyterne sted i blodbanen som følge af den kroniske aareladningsanæmi, ogsaa indtræder en stigning af mængden af modningsstoffer i plasma. (Se Kapitel XVI).

Det er kendt, at man ved fødslen og i de første levedage hos mennesker saavel som hos dyr finder en stærkt forøget mængde reticulocyter svarende til den stærkt forøgede erythropoese.

Er denne forøgede reticulocyt-mængde ledsaget af en ned-sættelse af modningsstoffernes mængde i plasma, saaledes som man skulde vente at finde det udfra de iagttagelser man har gjort hos normale, hvor et højt reticulocyt-tal svarer til en lav modningsindex og omvendt, eller er reticulocytosen ledsaget af en forøget mængde modningsstof, saaledes som man finder det, hvor der er tale om en forøget erythropoese, som ved den kroniske aareladningsanæmi, jvfr. Kapitel XVI?

Undersøgelser af blodbilledet i den første levetid, saavel hos dyr som hos mennesker er talrige. Det er saaledes almindelig kendt, at man ved fødslen finder et højt reticulocyt-tal, Sey-fahrt & Jürgens (1928), Drabkin & Fitzhugh (1934), Orten & Smith (1934), Kato (1937), Faxén (1937).

De her foretagne undersøgelser er alle gjort paa hæmatologisk set ikke udvoksede dyr, og til undersøgelserne har man valgt rottæunger, dels paa grund af, at materialet var nemt at

Alder i dage	Antal	Reticulocyt i % (gennemsnit)	Modningsindex
0	8	88	1,84
1	8	71	1,67
2	8	55	1,62
3	8	49	1,51
4	8	43	1,51
5	8	36	1,42
6	8	34	1,45
8	6	30	1,37
10	5	25	1,25
12	5	19	1,25
14	5	20	1,16
16	6	14	1,14
18	4	15	1,07
20	3	12	1,02
24	4	9	1,08
28	3	6	0,90
30	3	6	0,90
35	3	2	0,82
40	4	1	0,84
45	3	0,8	0,80
voxen	10	0,7	0,82

Tabel 32.

Variation i reticulocyt-mængden samt modningsindex hos rotter under opvæksten.

skaffe, dels fordi man nøje kendte disse dyrs alder og endelig fordi disse dyr først sent bliver hæmatologisk udvoksede Addison & Richter (1923), Crimm, P. D. & Short, D (1934), Drabkin, D. L. & Fitzhugh (1934), Jacobsen & Plum (1924), Plum (1943).

Blodprøverne paa rotteunger er vanskelige at tage, og for at faa blot nogenlunde rigelige mængder blod, har man, som paa mus og rotter, taget blodet efter overskæring af vena cava inf.

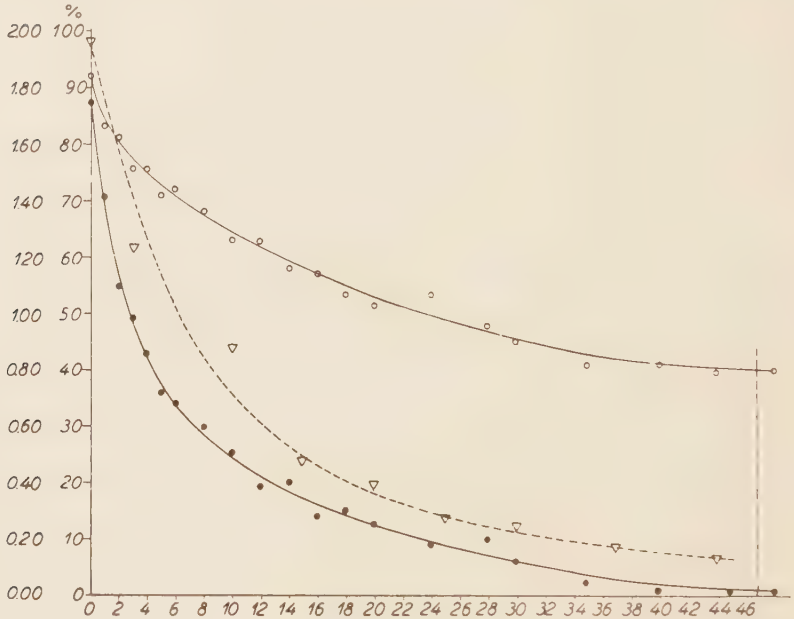


Fig. 31.

Variationer i reticulocyt mængde og modningsindex hos rotter i de første levedage.

Abscisse: Tid i dage. Ordinat: Reticulocyt. i %; modningsindex.

○ — ○ modningsindex.

● — ● egne reticulocyttællinger.

▽ - - - ▽ Orten & Smith's reticulocyttællinger.

De mængder blod, man saaledes har kunnet skaffe sig, var i høj grad afhængig af dyrets alder, og paa de yngste dyr lykkedes det kun at faa mængder, som tillod opsætning af to prøver, hvorfor man til disse undersøgelser anvendte flere dyr end ved undersøgelserne paa ældre dyr. Fra dyr, hvis alder var fra 0—6 dage, fik man saaledes kun blod nok til opsætning af to prøver fra hvert dyr, altsaa en bestemmelse straks og en efter henstand, man anstillede derfor forsøgene saaledes, at

man bestemte 0-værdien for alle dyr, og derefter bestemte man svindet efter to timer paa to dyr og ligeledes efter 6 timer paa paa to dyr, hvorefter man beregnede modningsindex. Undersøgelserne paa dyr, hvis alder var 8—10 dage, er gjort paa samme maade, idet man dog her fra hvert dyr fik blod nok til opsætning af tre prøver, hvorfor man foretog bestemmelserne saaledes paa 2 dyr: 0—2—4 timer, paa 2 dyr: 0—2—6 timer og endelig paa to dyr: 0—4—6 timer, hvorefter man har foretaget beregningen af modningsindex; efter 10 dage kunde man faa tilstrækkelige blodmængder til opsætning af alle fire prøver.

Som det vil ses af tabel 32 og fig. 31, er der her et ganske andet forhold mellem reticulocytmængden og modningsindex end det, man finder hos det udvoksede dyr, idet man hos ungerne finder ganske betydelige mængder af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne, svarende til den høje reticulocytprocent.

Faldet af reticulocyterne foregaar parallelt med faldet af mængden af modningsstofferne; dette fald fortsætter i den første levetid, indtil rotteungen har faaet et reticulocytbillede, der svarer til det, man finder hos den voksne rotte, hvilket sker ca. 30 dage efter fødslen svarende til det tidspunkt, hvor det øvrige hæmatologiske billede bliver overensstemmende med den voksne rottes.

Resumé:

Mængden af modningsstoffer hos rotteunger er størst ved fødslen og aftager derefter jævnt, svarende til faldet i reticulocytmængden, og naar først værdier, der er overensstemmende med, hvad man finder hos den voksne rotte, naar ogsaa det øvrige blodbillede er som hos den voksne rotte.

Man kan heraf slutte, at hvor der, som hos rotten, i den første levetid er tale om en stærkt forøget hæmatopoese, findes der ogsaa større mængde af de stoffer, der betinger udviklingen af reticulocyter; et forhold der ganske svarer til de tidligere omtalte iagttagelser hos kaniner med experimentel reticulocytose fremkaldt ved aareladning.

SEXTENDE KAPITEL

Den experimentelle reticulocytoses og aareladningsanæmis indflydelse paa modningsindex.

Hos normale kaniner finder man som tidligere beskrevet ganske samme resultat med hensyn til forholdet mellem modningsindex og reticulocytængden, som hos andre normale udvoksede dyr.

Hos kaniner, der er anæmiserede ved aareladning gennem længere tid, og derved har faaet en udtalt *reticulocytose* og *anæmi* er forholdet et ganske andet, idet man her finder, at der trods det høje reticulocytstal findes en meget høj modningsindex.

Følger man en kanin under anæmiseringen, ser man, som det fremgaar af fig. 32 og 33 og tabellerne 33—34, at stigningen i modningsindex følges med stigningen i reticulocytængden, og at modningsindex svinger omkring et »maximum«, saa snart reticulocyterne har naaet deres »maximum«. Ophører man med aareladningen, indtræder der en remission af forholdene i blodet, der blandt andet viser sig ved et fald i reticulocyterne med samtidigt fald i modningsindex.

Som det vil ses af kurverne, finder man hos det enkelte dyr under anæmiseringen en jævn stigning m. h. t. indholdet af stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne. Naar dyret har været behandlet gennem længere tid (10—14 dage), viscr det sig, at det naar et maximum baade m. h. t. reticulocytstal og modningsindex. Der er altsaa en direkte og ikke omvendt sammenhæng mellem reticulocytængden og indholdet af de stoffer i plasma, der betinger modningen af reticulocyterne, naar der er tale om en simpel blødningsanæmi.

Hvis kaninerne har en dyb anæmi, der har varet længe, eller anæmien har udviklet sig pludseligt, f. ex. paa grund af store daglige aareladninger, kan blodlegemerne blive uanvendelige til forsøg. De gange man har staaet overfor saadanne tilfælde, har det ved sammenligning med andre dyr vist sig, at saavel det »abnorme« dyrs plasma som blodlegemer ikke gav resultater, der svarede til tidligere undersøgelser. Naar man finder disse tilfælde, maa det tilskrives agglutinationsfænomener, idet blodlegemerne fandtes sammenklumpede, saaledes at tællenojagtigheden var meget lille. Ofte kunde man se variationer fra time til time, for saa pludseligt ingen variationer at se, men snarere en stigning i reticulocyternes antal. Hvor man undersøgte plasma fra saadanne dyr, fandtes der store udfældninger, der modtog farven, og som ganske slørede det reelle billede.

Almindelige hæmatologiske undersøgelser af disse kaniner gav intet afvigende billede fra andre kaniner, der ligeledes var anæmiseret gennem lang tid; men der var en kraftig lipæmi og en sektion viste en tydelig bindevævsdegeneration af saavel lever som milt samt en apatisk knoglemarv.

Dato	Hbgl.	Erythrocyter	Reticulocyter $\frac{0}{100}$	Hjertepunktur ccm	Modningsindex
14. 10.	80	5.67	18	4	0.71
15. 10.			22	20	
16. 10.			22	30	
17. 10.			40	20	
18. 10.			92	20	
20. 10.			52	20	
21. 10.			56	10	
22. 10.			132	25	
23. 10.	33	1.86	150	45	0.87
24. 10.				20	
25. 10.	42	2.56	156	20	
27. 10.	46	3.15	192	45	0.94
28. 10.	31	2.05	205	45	
29. 10.	25	1.48	174	45	
31. 10.	29	1.75	270	45	
1. 11.				10	
3. 11.				30	
4. 11.	36	2.41	248	45	0.97
6. 11.				40	

Dato	Hbgl.	Erythrocyter	Reticulo- cyter _{0,00}	Hjerte- punktur ccm	Modnings- index
7. 11.	31	1.96	240	35	0.94
8. 11.				25	
10. 11.				20	
11. 11.	30	2.32	236	40	
13. 11.	35	2.35	240	40	
14. 11.				40	0.98
15. 11.	26	2.28	224	45	
17. 11.	25	2.41	200	30	
18. 11.				40	
19. 11.	16	1.40	258	45	
20. 11.	21	1.50	290	30	0.95
22. 11.				40	
24. 11.				15	
25. 11.	34	2.48	242	35	
26. 11.	30	1.81	158	45	
28. 11.	34	2.23	194	40	0.98
29. 11.				30	
1. 12.	39	1.83	176	40	
2. 12.	37	2.29	254	40	
3. 12.	28	1.64	238	45	
5. 12.	32	1.82	270	40	0.99
6. 12.	21	1.25	200	30	
9. 12.	27	1.47	180	30	
10. 12.	23	1.63	242	30	
11. 12.	28	1.36	256	35	
12. 12.	26	1.65	236	40	0.99
16. 12.	43	3.05	134	sep. 12. 12.	
18. 12.	53	3.34	140	—	
20. 12.	65	3.93	73	—	
Døde 20. 12.					

Tabel 33.
 Variationerne i blodbilledet samt i modningsindex
 under anæmiseringen.

Dato	Hbgl.	Erythro- cyter	Reticulo- cyter 0/00	Hjerte- punktur ccm	Modnings- index
17. 7.	82	5.12	3?	20	0.72
18. 7.	66	4.44	3?	18	
19. 7.				20	
22. 7.	51	4.17	24	20	0.80
24. 7.				20	
25. 7.	42	3.14	36	12	
26. 7.				20	
28. 7.			142	32	
29. 7.	34	2.25	164	32	0.88
31. 7.	42	2.61	180	32	
1. 8.	42	2.88	190	20	
2. 8.	34	2.28	170	30	0.96
4. 8.	40	2.41	160	30	
5. 8.	30	2.04	166	30	
6. 8.	37	2.10	196	30	
7. 8.	32	2.09	188	30	
8. 8.	20	1.66	156	35	0.98
Behandlingen seponeret indtil 25.8.					
25. 8.	76	4.61	14	20	0.68
26. 8.	63	4.45	18	30	
27. 8.	61	3.69	28	35	
28. 8.	52	2.93	59	40	
29. 8.	33	2.08	80	35	
30. 8.	33	2.33	129	30	0.90
1. 9.				40	
3. 9.				25	
5. 9.	46	2.73	182	35	0.95
8. 9.	43	2.91	132	35	
10. 9.	40	2.33	184	35	0.93
Død i umiddelbar Tilslutning til Hjertepunkturen 10.9.					

Tabel 34.
Variationerne i blodbilledet samt i modningsindex
under anæmiseringen.

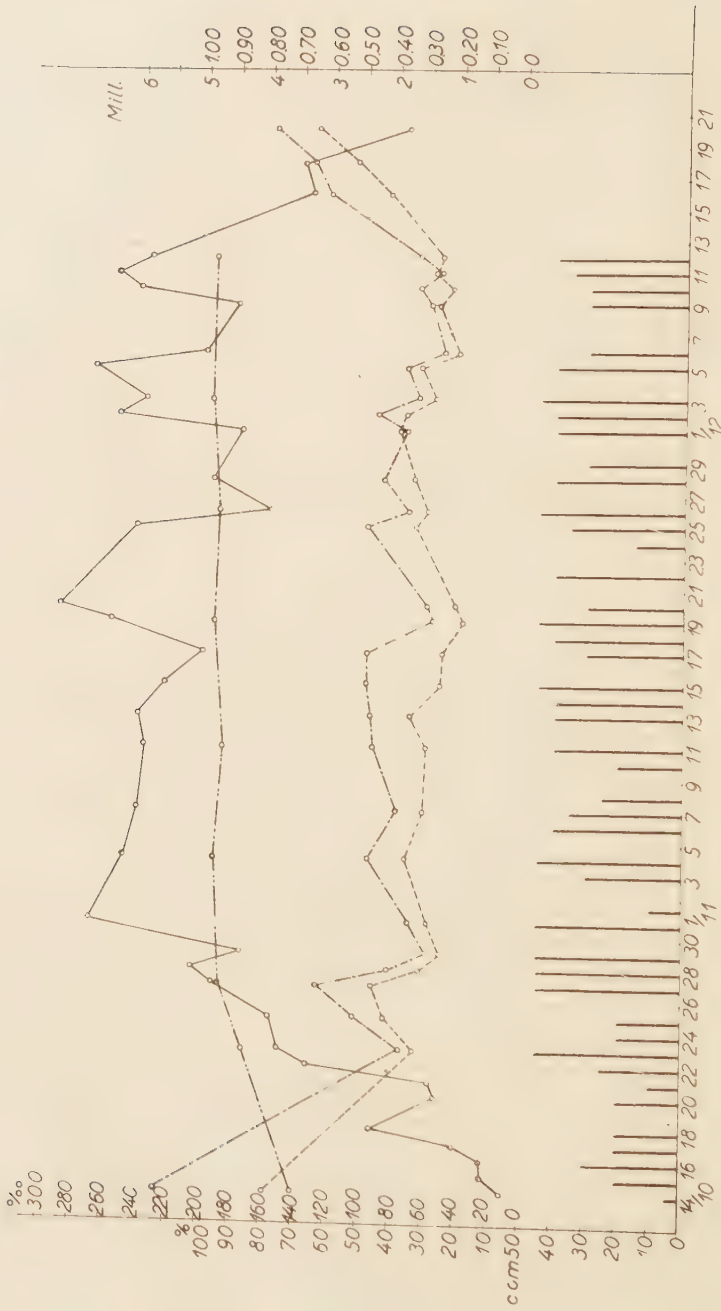
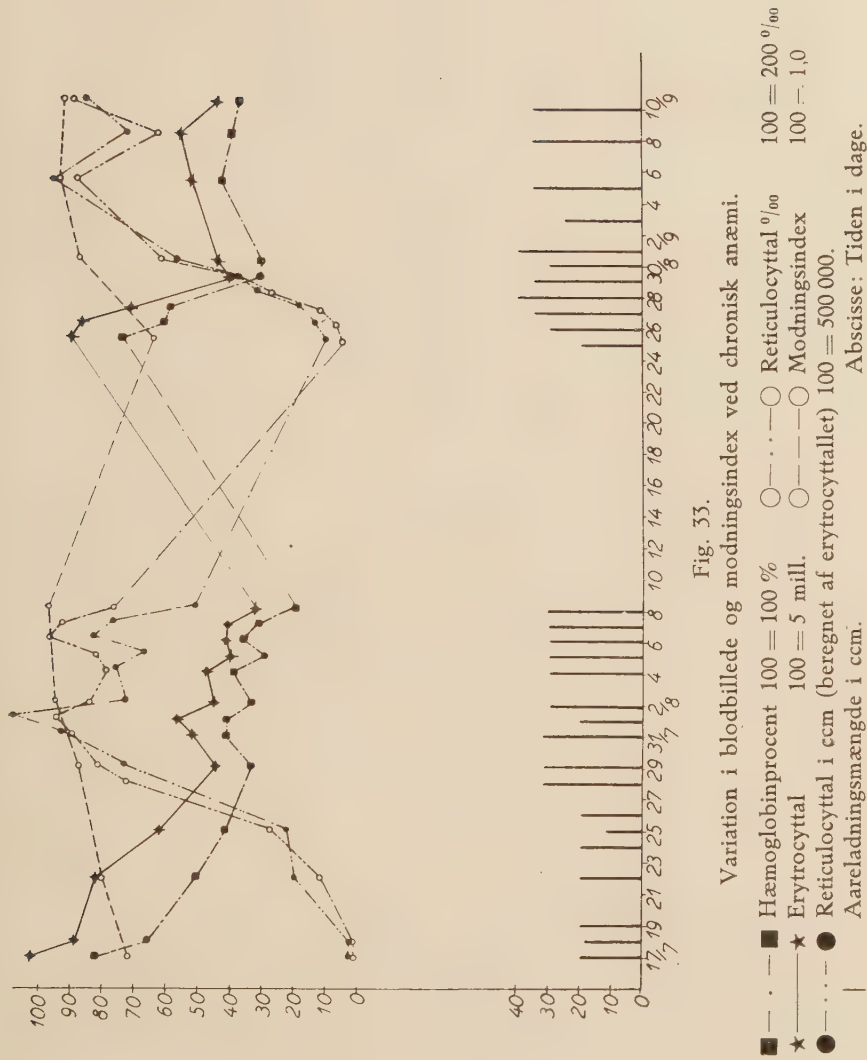


Fig. 32.

Variation i blodbillede og modningsindex ved kronisk anæmi.

○—○—○ Hæmoglobinprocent.
 ○—○—○ Modningsindex.
 | Areladningsmængde.

○—○—○ Erytrocyttal i mill.
 ○—○—○ Reticulocyt i %
 Abscisse: Tiden i dage.



Resumé:

Ved den anæmi, der opstaar som følge af den daglige aare-ladning, ses der en reticulocytstigning; man har derfor undersøgt ændringerne i koncentrationen af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne, og har fundet, at der samtidig med reticulocytstigningen kommer en forøgelse af disse stoffer. Man ser altsaa her det forhold, at en stor koncentration af modningsstoffer ledsager en høj reticulocytprocent, medens man som tidligere nævnt hos normale dyr altid ser, at en stor koncentration af modningsstoffer ledsages af en lav reticulocytprocent. Dette forhold maa tydes som en af organismen forøget dannelse af de stoffer, der er medvirkende ved erythropoesen, der under de her nævnte forhold er stærkt forøget.

En blødningsanæmi giver altsaa en forøgelse af reticulocyterne, men samtidig en forøgelse af de stoffer, der betinger modningen af disse celler.

SYTTENDE KAPITEL

Andre experimentelle anæmier og deres indflydelse paa indholdet af modningsstoffer i plasma.

Til belysning af sammenhængen mellem plasmas indhold af modningsstoffer og erytropoesen er det af interesse at undersøge mængden af modningsstoffer i plasma under forskellige andre anæmiformer end blødningsanæmi.

De fleste anæmiformer vil kunne grupperes indenfor følgende tre grupper:

I) Mangelfuld tilførsel af raaprodukter saasom jern, kobber o. s. v., det vil sige stoffer, der er medvirkende ved hæmoglobindannelsen. Det er de saakaldte *Mangelanæmier*.

II) Forøget henfald af erythrocyter uden at organismen er i stand til ved egen hjælp at tilfredsstille forbruget. Det er de saakaldte *Destruktionsanæmier*.

III) Mangelfuld funktion af knoglemarven, d. v. s. de *hypo- eller aplastiske anæmier*.

(Se iøvrigt W .B. Castle & G. R. Minot: Pathological physiology and clinical description of the anemias, 1936).

Mælkeanæmi.

Scott (1923) meddelte, at rotteunger, der efter lactationsperioden blev fodret med almindelig sødmælk, fik en udtalt anæmi, dersom mødrene havde været holdt paa en kost bestaaende af almindelig sødmælk. Hart, Elvehjem og medarbejdere (1928) viste, at dersom unge rotter sættes paa en kost, der udelukkende bestaar af mælk, udvikler der sig en anæmi hos dyrene. Dersom man gav rotter, saaledes anæmiseret gennem denne ensidige kost, et tilskud af jern, steg organismens

jernmængde, men der kunde ikke spores nogen virkning paa hæmoglobindannelsen. Dersom man foruden jernet tillige gav dem et tilskud af kobber, indtraadte der derimod en stigning i hæmoglobinnmængden, som oftest ledsaget af en stigning i reticulocyternes antal.

Den anæmiform, der udvikles under mælkediet, synes saaledes at skyldes en mangel paa jern og kobber i kosten.

Forsøgsmetodik: Til forsøgene med mælkeanæmi anvendtes saavel han- som hunrotter (hvide), 1 maaned gamle med en vægt paa 40—70 g. (Gennemsnit: 55 g).

I glaskar anbragtes 4 han- og 4 hunrotter. Bunden i karrene var dækket med savsmuld og høvlspaaner, laaget til karrene var af træ, saaledes at dyrene ikke kom i forbindelse med metal i forsøgsperioden; endvidere anbragtes 4 hanrotter i almindelige traadbure, disse dyr repræsenterede kontrolmaterialet.

Rotterne i karrene fik en kost bestaaende af sødmælk (stassaniseret) ad libitum, medens de fire kontrolrotter fik almindelig avlskost bestaaende af:

Skummetmælkspulver	15,00 kg
Kartoffelmel	20,00 -
Tørgær	3,75 -
Jordnøddeolie	7,50 -
+ 3000 enheder A-vitamin + 100 enheder D-vitamin pr. kilo foderblanding.	

Blodundersøgelser blev alle gjort paa blod stammende fra halekarrene. Blodprøverne blev taget med et særligt konstrueret apparat efter *Sjövalles* princip: Apparatet bestaar af et 13 cm langt glasrør, der i begge ender er forsynet med gummiprop, se fig. 34—35. I den ene gummiprop (I) er der en gennemboring (A), der har en øvre diameter paa 1,6 cm, og en nedre paa 1,0 cm. Den anden gummiprop (II) er forsynet med to gennemboringer, den ene af en diameter sv. t. et dværgreagensglas (B), den anden beregnet til et glasrør (C) til forbindelse med en vacuumpumpe. Naar blodprøven skal tages, anbringes rottens hale i apparatet, d. v. s. stikkes gen-

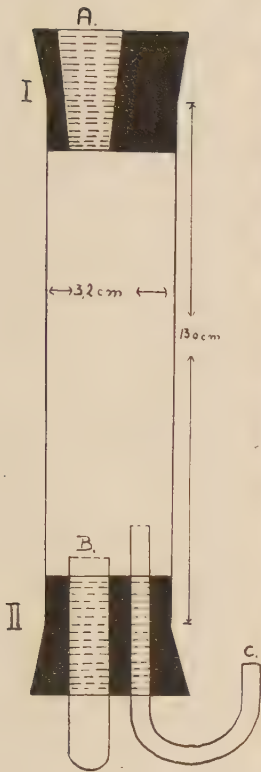


Fig. 34.
Apparat til blodtagning
fra rotte hale.
(Se iøvrigt teksten).



Fig. 35.
Blodprøvetagning hos rotter.

nem gennemboringen (A) efter at haleroden er godt indfedtet i vaseline; herefter paasættes den anden gummiprop, og forbindelsen til vacuumpumpen sluttet. Efter ca. 2 minutters sugning afbrydes denne, og gummiproppen (II) aftages. Med en skarp saks afklippes nu ca. 1 cm af halespidsen. Halen anbringes nu i dværgreagensglasset (B), og proppen (II) sættes paany i glasset, hvorefter der suges igen. I løbet af kort tid vil der i glasset (B) være blod nok til de ønskede undersøgelser (C. M. Plum, 1943).

Blodprøverne til de her nævnte undersøgelser blev taget i to tempi, saaledes at man først tog blodet til de almindelige

Køn	♂			♀				
Kost	16 ₄ —29 ₅	Mælk	29 ₅ —18 ₆ Avlskost	16 ₄ —29 ₅	Mælk	29 ₅ —18 ₆ Avlskost		
Køn.....	♂			♀				
Dato.....	16.4	15.5	29.5	18.6	16.4	15.5	29.5	18.6
Vægt g.....	77	155	163	245	40	88	90	148
Hæmoglobin % ..	100	82	74	103	96	96	74	96
Erytrocyt	7.93	8.53	11.51	5.89	8.29	9.80	12.24	7.67
Leucocyt.....	7.440	9.840	8.120	8.440	7.660	10.200	9.320	8.820
Reticulocyt ‰ ..	12	85	136	16	10	66	160	11
Modningsindex ..	0.79	0.91	0.96	0.78	0.80	0.84	0.98	0.82

Køn	♂			♀				
Kost	16 ₄ —29 ₅	Mælk	29 ₅ —18 ₆ Avlskost	16 ₄ —18 ₆ Avlskost	16 ₄ —18 ₆ Avlskost	16 ₄ —18 ₆ Avlskost		
Køn								
Dato	16.4	15.5	29.5	18.6	16.4	15.5	29.5	16.4
Vægt g	67	139	150	202	62	131	174	235
Hæmoglobin %	112	82	72	95	109	99	98	102
Erytrocyt	9.32	9.25	12.12	9.33	9.51	8.98	7.90	8.66
Leucocyt	7.460	8.060	7.840	7.340	9.460	6.200	6.880	9.820
Reticulocyt ‰	11	56	187	14	10	10	13	13
Modningsindex	0.81	0.85	0.96	0.80	0.82	0.82	0.82	0.85
					0.82	0.82	0.80	0.81

Tabel 35.

Blodundersøgelser hos 4 rotter paa mælkcost med efterfølgende kostændring til avlskost.
+ 2 rotter paa almindelig avlskost.

Kost	$16/4-12/6$ Mælk	$12/6-28/6$ Mælk 0.5 mg FeCl ₃ 0.25 mg CuSO ₄	$16/4-12/6$ Mælk	$12/6-28/6$ Mælk 0.5 mg FeCl ₃ 0.25 mg CuSO ₄	$16/4-12/6$ Mælk	$12/6-28/6$ Mælk 0.5 mg FeCl ₃ 0.25 mg CuSO ₄
Køn.....	♂		♂		♀	
Dato	16.4 15.5 12.6 28.6		16.4 15.5 12.6 28.6		16.4 15.5 12.6 28.6	
Vægt g.....	63 134 182 204		46 104 158 168		70 127 154 167	
Hæmoglobin %.	100 81 70 116		94 90 79 109		100 84 74 129	
Erytrocyt	6.83 9.01 7.23 8.51		7.90 10.17 7.21 8.39		8.92 8.73 10.03 8.38	
Leucocytt.....	9.240 7.200 7.640 9.840		8.680 8.240 7.440 8.620		8.420 6.580 8.120 10.220	
Reticulocyt % ₀₀ ..	11 60 106 10		16 72 86 12		12 83 142 16	
Modningsindex ..	0.83 0.87 0.94 0.80		0.79 0.88 0.99 0.79		0.80 0.89 0.99 0.79	

Kost	$16/4-12/6$ Mælk	$12/6-28/6$ Mælk 0.5 mg FeCl ₃ 0.25 mg CuSO ₄	$16/4-28/6$ Avlskost	$16/4-28/6$ Avlskost
Køn.....	♀		♂	♂
Dato	16.4 15.5 12.6 28.6		16.4 15.5 12.6 28.6	16.4 15.5 12.6 28.6
Vægt g.....	41 99 129 156		63 164 263 290	40 159 212 235
Hæmoglobin %.	115 81 66 124		96 95 99 113	104 100 112 106
Erytrocyt	8.55 8.47 9.53 9.75		8.21 9.81 8.90 9.94	8.67 8.55 7.86 8.96
Leucocytt.....	8.420 9.940 7.240 8.960		7.640 8.600 10.640 7.460	6.480 8.920 10.240 9.260
Reticulocyt % ₀₀ ..	10 82 127 15		10 20 13 12	10 10 16 16
Modningsindex ..	0.82 0.86 0.96 0.83		0.79 0.79 0.80 0.80	0.79 0.79 0.77 0.78

Tabel 36.

Blodundersøgelser hos 4 rotter paa mælkekost med efterfølgende tilskud af jern og kobber.
+ 2 rotter paa almindelig avlskost.

undersøgelser (hæmoglobinprocent, erytro-, leuco- og reticulocyttælling samt udstrygningspræparat til differentialtælling) i et tørt reagensglas med tørt oxalat-fluorid i bunden (blandingen bestod af 9 dele kaliumoxalat + 1 del natriumfluorid), hvorefter man i et andet reagensglas tog den mængde blod, man ønskede til modningsforsøgene; her hindredes koagulationen med natriumcitrat (3,8 %).

Resultaterne fremgaar af tabellerne 35 og 36:

Hos alle rotterne, der var paa mælkekost, saas et fald i hæmoglobinmængden (gennemsnit: 103—70), selvom det ingeni lunde kan sidestilles med de resultater, som *Hart, Elvehjem* kan fremvise, idet de fandt, at hæmoglobinmængden reduceredes til 33 %, medens man i det her foreliggende materiale højst fandt et fald til 60 %.

Hos nogle af dyrene ser man samtidigt med faldet i hæmoglobinmængden en stigning af erythrocyternes antal. Erythrocyternes diameter aftager i disse tilfælde med 15—25 %, der er altsaa udviklet en microcytær-hypochrom anæmi. Samtidigt med at anæmien indtræder, søger organismen selv at bedre status gennem en forøget erytropoese, hvilket ses af den forøgede reticulocyt mængde (gennemsnit: 12°_{00} — 137°_{00}), der ledsages af en Stigning i Plasmaets Modningsindex.

Naar man ikke finder saa stort et fald i hæmoglobinmængden (gennemsnitlig: 103 %—70 %) som andre undersøgere, maa dette muligvis tilskrives, at der til forsøgene er anvendt stassaniseret mælk, der i modsætning til tidligere forsøgs raa mælk, har været udsat for nær kontakt med store kobberplader.

Ved en ændring i kosten, enten ved at give dyrene et tilskud af jern eller kobber eller ved at erstatte mælkekosten med den almindelige avlskost, faar dyrene deres behov af jern og kobber dækket, saaledes at der efter nogen tids forløb indtræder normale forhold med hensyn til blodbilledet.

Om virkningen af dette jerntilskud udelukkende har betydning for hæmoglobindannelsen er vanskeligt at sige, idet dyrene paa mælkekosten viste sig at trives mindre godt og tabte i vægt. Ved tilskudet af jern saa man en tydelig vægtforøgelse, saaledes at man maa slutte, at jernet ikke blot ind-

virker paa hæmoglobindannelsen, men ogsaa har betydning for en del af organismens andre funktioner.

Hos dyr, hvis jerntilførsel er nedsat, ser man altsaa, at der udvikles en microcytær-hypochrom anæmi (hæmoglobin: 103—70 %), ledsaget af en reticulocytose (reticulocyt: 12—137 ‰) og en forøgelse af de reticulocytmodnende stoffers mængde (modningsindex: 0,81—0,97) i plasma.

Anæmi ved forgiftning med hydroxylamin.

Hydroxylamin er en blodgift, der omdanner hæmoglobin til methæmoglobin i lighed med f. ex. fenyhydroxylamin, fenyhydrazin og hydrazin.

Dersom man giver hydroxylamin i større mængde til forsøgsdyrene, indtræder der en kraftig bloddestruktion, der medfører døden. Indgiver man derimod daglig smaa doser, foraarsager hydroxylaminen i lighed med andre dermed beslægtede stoffer til at begynde med en svær anæmi, der senere aftager noget. Dette skyldes tildels, at erythrocyterne bliver mere resistente end normalt (Morawitz & Pratt, 1908, Suzuki, 1912), men først og fremmest, at det erytropoetiske system forøger sin virksomhed (Tallqvist, 1899, Duesberg, 1931).

Man finder ved denne behandling med hydroxylamin en regeneratorisk anæmi, d. v. s. en anæmiform, der er karakteriseret ved en voldsom knoglemarvsvirksomhed, der er anspændt til det yderste for at holde blodlegemedstruktionen i skak. (Se endvidere Jacobsen, Plum & Milwertz, 1939).

Forsøgsmetodik: Alle forsøgene er udført paa hvide hankaniner, der under forsøgene holdtes i enkeltbure paa en kost bestaaende af hø og kaalblade.

Der foretoges blodundersøgelser paa veneblod fra øret. Disse undersøgelser omfattede: Hæmoglobinprocent, tælling af erytro-, leuco- og reticulocyter; med mellemrum foretog man undersøgelser af plasmaindholdet af modningsstoffer. Blodet til disse undersøgelser blev taget ad modum Sjövall (1936).

Dyrene har daglig intravenøst i øret faaet en injektion af en vandig opløsning af hydroxylaminhydroklorid, saaledes at

0,5 ccm svarede til 5 mg hydroxylaminhydroklorid. Der blev givet 0,5 ccm pr. kilo legemsvægt. Opløsningen var neutraliseret til pH: 7,2, da en for sur opløsning gav stærke smerter og thromboserede venerne. Kaninerne taalte disse injektioner godt.

Resultaterne fremgaar af fig. 36.

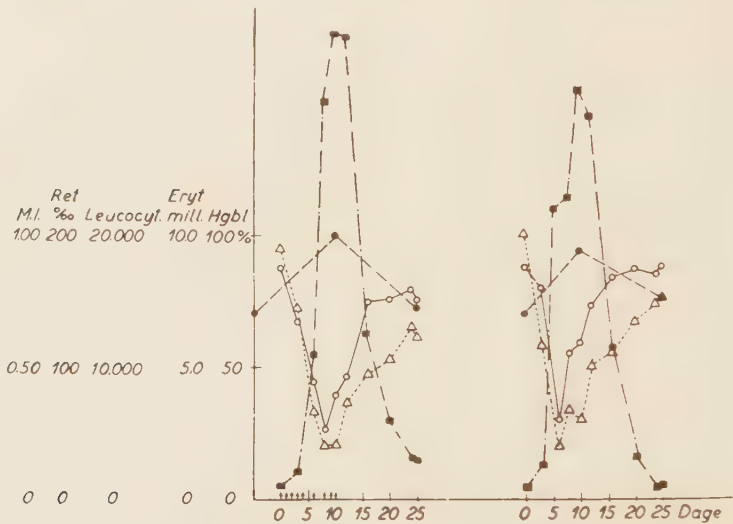


Fig. 36.
Resultaterne ved hydroxylaminbehandlingen.

- Hæmoglobinprocent
- △--△ Erythrocyttal
- Reticulocytal
- Modningsindex (M. I.)

Som det vil ses, indtræder der meget hurtigt et fald i hæmoglobinprocenten (gennemsnit: 90—32 %) og erythrocyttallet (gennemsnit: 9,20—2,40 mill.) ledsaget af en stigning i reticulocyternes antal (gennemsnit: 16—340 ‰).

Ved undersøgelser af plasmaets indhold af reticulocytmodnende stoffer fandt man her en stigning af disse (modningsindex, gennemsnit: 0,71—0,98), svarende til stigningen i reticulocyternes antal, hvilket maa tydes som en kompensatorisk produktion af modningsstoffer for at hindre det store fald i

erythrocyttallene, ganske svarende til, hvad man kan iagttage hos forsøgsdyrene med blødningsanæmi, Kapitel XVI.

Ved ophør af injectionerne ser man en jævn stigning af erythrocyttallene ledsaget af en stigning i hæmoglobinprocenten og et fald i reticulocyttallene, alt gaående imod normale værdier. Samtidigt med denne remission ser man et fald i mængden af modningsstoffer i plasma.

Benzolforgiftningsanæmi.

Benzolforgiftning fører ikke sjældent til blodforandringer og knoglemarvsbeskadigelser. Hos individer, der er særlig følsomme overfor benzol ses ved forgiftning hermed en udtalt leucocytopeni og thrombopeni, knoglemarven bliver hypoe eller aplastisk, og der ses tydelige nekrobiotiske forandringer i granulocyterne. Hos individer, der er mindre følsomme overfor benzol, ser man kun ringe forandringer i blodbilledet, knoglemarvens funktion er som regel uforandret, eller ogsaa ses der en let hyperplasi af denne. Iøvrigt henvises til *W. B. Castle & G. R. Minot: Pathological physiology and clinical description of the anemias*, 1936; *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, 1 Bd., 1923, *A. Ellinger*, og *Downeys Handbook of haematology*, 1938.

Forsøgsmetodik: Til forsøgene anvendtes hvide hankaniner (vægt: 2250—2800 g), der under forsøgene holdtes i enkeltbure paa en kost bestaaende af hø og kaalblade.

Der bestemtes daglig hæmoglobinprocent, erytro-, leuco- og reticulocyttal paa blod stammende fra ørevene. Med mellemrum tog man blod til plasmaundersøgelser m. h. t. modningsstoffer.

Paa en del dyr forsøgte man den af *Langlois & Desbouis* (1907) angivne metode til experimentel benzolforgiftning, idet man gav 2 ccm benzol intravenøst, men dyrene døde umiddelbart efter eller under injectionen; man prøvede saa at give mindre doser, men selv doser à 0,2 ccm forvoldte dyrenes umiddelbare død.

Benzolforgiftningen blev derefter foretaget paa følgende maade: der injiceredes daglig 2,5 ccm benzol + 2,5 ccm jord-

nøddeolie subcutant paa ryggen. En metode der blandt andet ogsaa er anvendt af *Schilowa* (1930).

Der blev foretaget to forsøgsserier.

Af første forsøgsserie, som omfattede ialt 8 dyr, viste 2 dyr ingen tegn til reaktion selv efter 10 dages daglige injectioner, hvorfor man standsede injectionerne, og lod dyrene udgaa af

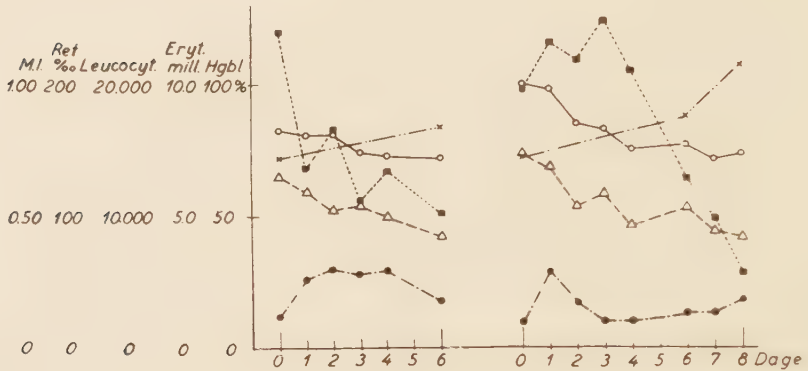


Fig. 37.

Resultaterne af den kortvarige benzolbehandling.

- Hæmoglobinprocent
- △---△ Erytrocyttal
- Leucocyttal
- Reticulocyttal
- ×-·-·× Modningsindex (M. I.)

Der gives daglig $2\frac{1}{2}$ ccm benzol + $2\frac{1}{2}$ ccm jordnøddeolie subcutant.

forsøgene. Af resten døde 1 dyr umiddelbart i tilslutning til injectionen d. 6. dag, de øvrige 5 dræbtes 6.—8. dag.

Resultaterne for to dyr af denne forsøgsserie fremgaar af fig. 37, hvorefter det ses, at i nogle tilfælde er der ved forsøgenes begyndelse tegn til leucocytose, saaledes som ogsaa beskrevet af *Schilowa*, men derefter indtræder der et fald i leucocyternes antal. Erytrocyternes antal aftager under injectionerne parallelt med hæmoglobinprocenten. Reticulocyternes antal tiltager de første dage, men aftager saa jævnt derefter.

Hvad angaar modningsstoffernes mængde i plasma saa ser man en tydelig stigning i deres mængde under injectionerne.

Sektionen af disse dyr viste betydelige individuelle variationer, idet man hos 2 dyr fandt en hyperplastisk knoglemarv

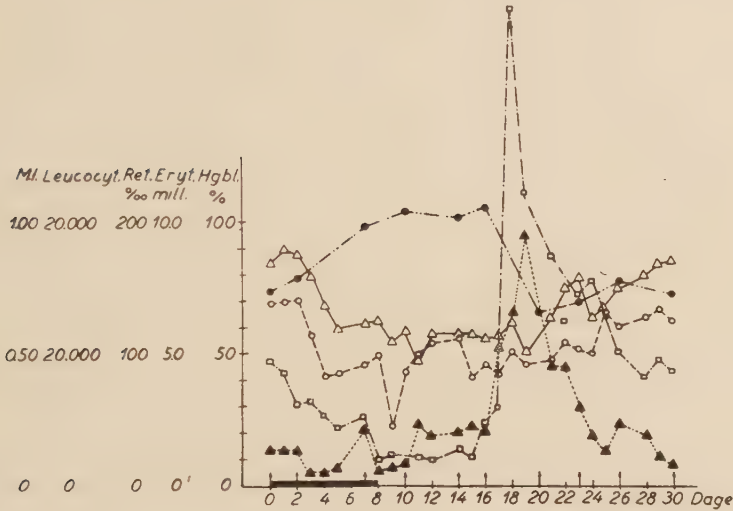


Fig. 38.

Resultaterne ved den kortvarige benzolbehandling med efterfølgende remission.

- △—△ Hæmoglobinprocent
- Erythrocyttal
- Leucocyttal
- ▲····▲ Reticulocyttal
- Modningsindex (M. I.)
- Daglig injection af 2½ ccm benzol + 2½ ccm jordnøddesolie

med talrige erythrocyter udenfor karrene og talrige megakaryocyter, hos de andre dyr (4) fandt man en hypoplastisk knoglemarv med stærkt dilaterede kar. I begge grupper fandtes en stor procentdel af cellerne med pyknotiske kærner, hvor kromatinet var samlet i ringe eller klumper, hvilket maa tydes som et forøget henfald af cellerne.

Baade i gruppen med den hyperplastiske og den hypoplastiske knoglemarv fandtes en forøgelse af modningsstoffer i plasma.

Den anden forsøgsrække omfattede 4 kaniner, der ligeledes blev behandlet med benzol. Alle disse dyr reagerede paa benzol og viste et fald i hæmoglobin, erythrocyttal, reticulocyttal og leucocyttal i løbet af 10 dage samtidigt med en stigning af mængden af modningsstoffer i plasma.

Efter daglige injectioner i 8—12 dage af benzol - jordnøddolie blev behandlingen seponeret.

Hos dyr i denne forsøgsrække, hvor man ophørte med injectionerne (fig. 38) efter at der var indtraadt et tydeligt fald i knoglemarvsfunktionen, bedømt udfra de perifere blodbilleder, indtraadte der efter ca. 8 dages uforandret blodbillede en pludselig stigning i saavel leucocyternes som reticulocyternes mængde, efterfulgt af en stigning i hæmoglobinprocenten og erythrocyttallet. Denne forandring af det perifere blodbillede maa tages som et udtryk for en pludselig ophævelse af knoglemarvsblokaden.

Mængden af modningsstoffer, der som følge af benzolforgiftningen havde været stærkt forøget, holdt sig forøget indtil den ovennævnte knoglemarvsblokade ophørte, hvorefter man saa et fald i mængden af modningsstoffer til værdier, der laa under det normale, for derefter igen at stige til normale værdier, hvilket fandt sted samtidigt med at det perifere blodbillede paa andre omraader ogsaa var blevet normalt.

Disse forsøg viser, at der under en benzolforgiftning findes en nedsættelse af knoglemarvsfunktionen; denne er ledsaget af en forøgelse i produktionen af de reticulocytmodnende stoffer i plasmaet; et lignende forhold som man ellers ser, naar der pludseligt stilles store krav til organismens evne til at producere flere blodlegemer end det normale behov kræver.

Resumé:

Ved den her foretagne gennemgang af forskellige experimentelle anæmier ser man, at samtlige undersøgte anæmiformer, uanset deres oprindelse udmærker sig ved, at der optræ-

der forøgede mængder reticulocytmodningsstoffer i plasma. Dette gælder ogsaa de tilfælde, hvor knoglemarvsfunktionen er nedsat og reticulocyttallet som følge deraf gaaet ned. Forholdet maa tydes som et led i de kompensatoriske foranstaltninger organismen raader over til bekæmpelse af den pludselige nedgang i erythrocyternes mængde.

Disse undersøgelsers resultat falder ganske i traad med, at modningsstofmængden er forøget, hvor der er tale om en forøget erytropoese, f. ex. ved den kroniske aareladningsanæmi (Kapitel XVI) og svarende til de første levedage, hvor man ligeledes finder en forøget erytropoese (Kapitel XV og *Jacobsen & Plum* (1943)).

FJERDE AFSNIT

ATTENDE KAPITEL

Undersøgelser over forholdet mellem modningsindex og reticulocyt-mængden hos mennesker.

Medens undersøgelserne paa de forskellige dyrearter viste nogenlunde konstante forhold fra dyr til dyr indenfor samme art, viste det sig hurtigt, at der var særlige hensyn at tage hos mennesker, idet de første undersøgelser paa mænd gav overensstemmende resultater, medens undersøgelserne hos kvinder gav et højst besynderligt billede, idet man fandt temmelig store variationer. Disse variationer viste sig, som det senere skal klarlægges, at skyldes det forhold, at man til at begynde med ikke havde taget hensyn til menstruationscyclus, idet man kun midt imellem 2 menstruationer fandt værdier, der svarer til de værdier, man fandt hos mændene (se fig. 39).

Undersøgelserne hos mennesker viser som de tilsvarende undersøgelser paa andre dyrearter en tydelig relation mellem reticulocyt-mængden og modningsindex, idet et højt reticulocyt-tal svarer til en lav modningsindex og omvendt.

I det her undersøgte materiale er der taget hensyn til, at det udelukkende var raske og sunde mennesker med normalt blod-billede, der blev anvendt og for kvindernes vedkommende er prøverne taget midt imellem 2 menstruationer.

Resultaterne fremgaar af tabel 37 og fig. 39. Det drejer sig kun om et faatal af undersøgelser, men der synes ikke i dem at være nogen forskel i modningsindex indenfor de forskellige alderstrin, trods det, at man finder en lavere reticulocyt-mængde hos de ældre, hvor tillige fordelingen mellem de 5 *Trachtenbergske* grupper viser forskydning mod de ældre grupper. (*Plum*, 1941).

No.	Alder	Køn	Hbgl. %	Erythro- cyter mill.	Leuco- cyter	Reticulo- cyter ‰	Modnings- index
1	24	K	89	4.83	6340	4	0.76
2	25	K	95	4.78	6120	3	0.77
3	27	K	92	4.71	7040	3	0.79
4	28	M	100	4.98	5640	3	0.78
5	30	M	102	4.71	5860	4	0.77
6	32	M	100	5.12	7260	4	0.77
7	32	M	106	5.02	5280	6	0.72
8	32	M	99	4.92	6140	5	0.76
9	32	K	103	4.89	7220	2	0.81
10	33	M	101	4.98	6200	2	0.80
11	33	M	100	5.09	5840	3	0.78
12	36	K	90	4.43	6420	3	0.79
13	38	M	109	5.20	6880	4	0.76
14	48	M	100	5.17	7460	2	0.82
15	61	M	99	4.97	6360	3	0.76
16	69	K	93	4.71	7480	2	0.80
17	73	K	98	4.83	6240	1	0.84
18	76	M	105	5.19	5860	2	0.79
19	80	M	99	5.01	7220	1	0.85
20	81	M	108	5.23	6240	3	0.77
21	82	M	106	4.99	6280	2	0.81

Tabel 37.

Blodbilledet samt modningsindex hos mennesker.

Menstruationens indflydelse paa de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne.

Som det vil ses af tabel 38 og fig. 40 er der en stigning af modningsindex svarende til menstruationen, samtidig med at der kommer en stigning af reticulocyternes antal.

Af kurven fremgaar det endvidere, at stigningen af modningsindex begynder forend menstruationen indtræder, hvilket leder tanken hen paa, at produktionen af de stoffer, der

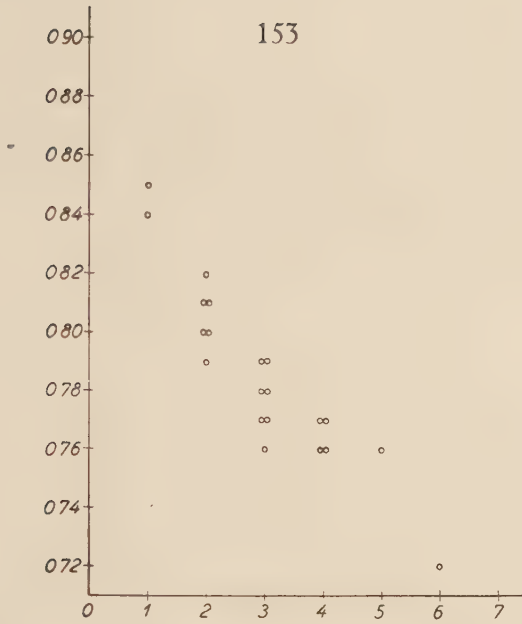


Fig. 39.

Modningsindex hos mennesker.

Ordinat: Modningsindex.

Abscisse: Reticulocytmængde i ‰.

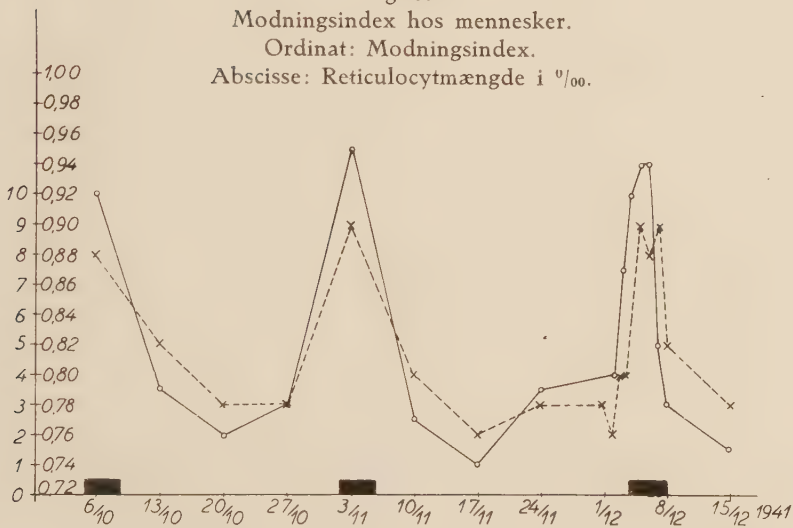


Fig. 40.

Relationen mellem modningsindex og reticulocytmængde hos en 27-aarig kvinde.

Ordinat: Modningsindex, Reticulocytmængde i ‰.

Abscisse: Tiden i dage.

- Modningsindex
 ■ Menses adsunt
 ×---× Reticulocytmængde

Dato	Menstruation	Reticulocyt o/o	Index
6. 10.	M.ads. 2. Dag	0.80	0.92
13. 10.		0.50	0.79
20. 10.		0.30	0.76
27. 10.		0.30	0.78
3. 11.	M.ads. 2. Dag	0.90	0.95
10. 11.		0.40	0.77
17. 11.		0.20	0.74
24. 11.		0.30	0.78
1. 12.		0.30	0.77
2. 12.		0.20	0.79
3. 12.		0.40	0.87
4. 12.		0.40	0.92
5. 12.	M.ads. 2. Dag	0.90	0.94
6. 12.	M.ads. 3. Dag	0.80	0.94
7. 12.	M.ads. 4. Dag	0.90	0.82
8. 12.		0.50	0.78
15. 12.		0.30	0.75

Tabel 38.
Reticulocyt-variation under cyclus samt variation af modningsindex
hos en 27-aarig kvinde.

betingelser modningen af reticulocyterne, er hormonalt reguleret, saaledes at organismen allerede for blodtabet væbner sig mod dette.

Resumé:

Undersøgelser af modningsindex hos mennesker viser, naar der for kvindernes vedkommende tages hensyn til menstruationen, samme forhold, som man finder hos de andre dyrearter, nemlig høj reticulocytprocent — lav modningsindex og omvendt. Det maa fremhæves (se fig. 29), at de værdier man finder hos mennesker, er lavere end de, man finder hos dyr med tilsvarende reticulocytprocent.

Menstruationen spiller en stor rolle for størrelsen af modningsindex, idet man ser denne vokse umiddelbart inden menstruationen indtræder (tabel 38).

Man kan maaske tænke sig, at hormonale kræfter i organismen, inden de sætter menstruationen i gang, forbereder organismen til at modvirke blodtabet.

NITTENDE KAPITEL

Reticulocytmogningsindex hos en patient med anæmia perniciosa.

Da det havde vist sig, at leverextrakter var rige paa reticulocytmognende stoffer, laa det nær at undersøge om disse var knyttet sammen med leverpræparaternes antiperniciøse effekt. Der fremstilledes derfor et m. h. t. den reticulocytmognende virkning inaktiv Hepsol fortior præparat, og dette gaves til en patient med ubehandlet pernicios anæmi.

Patienten er en 65-aarig mand. Bortset fra, at patienten igennem en længere aarrække har lidt af forskellige fordøjelsesbesværligheder, der skyldes en colon elongatum, har han i det væsentlige tidligere været rask, indtil der for 4 aar siden udviklede sig et glaukom paa begge øjne.

Nuværende lidelse begyndte for 6 maaneder siden med tiltagende dyspeptiske gener, træthed, svimmelhed og uoplagthed.

Den objektive undersøgelse frembyder udover det nævnte glaukom intet andet af interesse end bleghed med subikterisk skær, glat tunge og en lidt usikker gang. Der er ingen paræsthesier. Provemaaltid viste total achyli.

Blodundersøgelserne fremgaar af tabel 59. Straks efter at Sygdommen var konstateret blev behandlingen sat i gang, og der gaves 2×5 ccm af en specielt fremstillet Hepsol fortioropløsning uden reticulocytmognende stoffer. Der indtraadte ingen stigning i reticulocyt mængden eller andre forandringer i blodbilledet, ligesom mogningsindex forblev lav.

Efter 8 dages forløb gaves Hepsol fortior, der klinisk var prøvet og fundet aktiv, og der indtraadte da en stigning i reticulocyt mængden, og umiddelbart derefter steg hæmoglobin- og erythrocyt mængden.

I tilslutning til denne behandling undersøgte man ligeledes patientens plasma med hensyn til de stoffer, der paavirker reticulocytmogningen, og her fandt man en stigning af mogningsindex svarende til reticulocytstigningen; denne stigning af mogningsindex aftog sammen med reticulocyt tallet, indtil

Dato	Hbgl. ‰	Erytro- cyter Mill.	Farveindex (Hbgl.: Ery- trocyter × 20)	Reticulo- cyter ‰	Behandling	Mod- nings- index
17. 9.	54	2.38	1.18	1.2	—	—
19. 9.	55	2.20	1.25	0.8	5 ccm 0—85 D, bis	0.54
20. 9.	—	—	—	1.0	—	—
21. 9.	—	—	—	0.9	5 ccm 0—85 D, bis	0.56
22. 9.	—	—	—	1.2	—	—
23. 9.	58	2.45	1.18	0.8	—	—
24. 9.	—	—	—	1.1	—	—
25. 9.	—	—	—	1.0	—	—
26. 9.	58	2.29	1.26	0.9	—	—
27. 9.	—	—	—	1.1	—	—
28. 9.	—	—	—	1.0	—	—
29. 9.	56	2.33	1.19	1.1	—	0.53
30. 9.	—	—	—	0.9	5 ccm 0—85 A	—
1. 10.	—	—	—	1.0	—	—
2. 10.	—	—	—	1.1	5 ccm 0—85 A	—
3. 10.	—	—	—	1.0	—	—
4. 10.	—	—	—	1.3	—	—
5. 10.	—	—	—	1.8	5 ccm 0—85 A	—
6. 10.	62	2.50	1.24	2.2	—	—
7. 10.	—	—	—	2.5	—	—
8. 10.	—	—	—	3.0	—	—
9. 10.	—	—	—	3.2	—	0.92
10. 10.	—	—	—	3.1	—	—
11. 10.	—	—	—	3.1	—	—
13. 10.	99	3.07	1.12	2.4	—	—
14. 10.	—	—	—	1.8	—	—
15. 10.	—	—	—	1.4	—	—
17. 10.	81	3.73	1.08	1.2	—	0.85
18. 10.	—	—	—	1.6	—	—
20. 10.	84	3.91	1.06	1.0	—	—
23. 10.	88	4.26	1.03	1.2	—	0.79

Tabel 39.

Variationen i blodbilledet og modningsindex hos en patient med pernicios anæmi under behandling med leverextrakt.

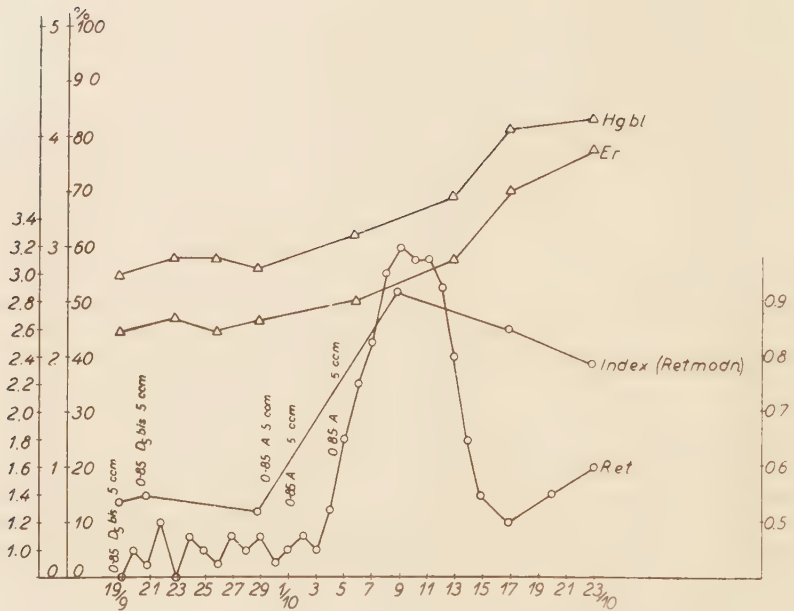


Fig. 41.

Variation i blodbillede og modningsindex hos en patient med pernicios anæmi under behandling med leverextrakt.

Abscisse i dage. Ordinat: Hæmoglobin i %

- Erythrocyter i millioner
- Reticulocyter i %
- Modningsindex

begge havde naaet normale værdier. Inden behandlingen indeholdt plasma meget mindre end normalt.

Man maa heraf slutte, at indgiften af Hepsol fortior virker som aktiverende faktor paa dannelsen af de stoffer, der er medvirkende ved reticulocytmødningen, idet den indgivne mængde ikke i sig selv kan forklare den stigning, som man finder.

Resumé:

Ved undersøgelser hos en patient, der lider af anæmia pernicioosa, finder man en nedsat mængde af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne. Ved indgift af leverextrakt ser man en stigning af saavel reticulocyternes som modningsstoffernes koncentration i blodbanen.

FEMTE AFSNIT

TYVENDE KAPITEL

Kemiske undersøgelser over de i leverextrakter forekommende reticulocytmodnende stoffer.

E. Jacobsen & C. M. Plum (1942) foretog en del undersøgelser med henblik paa den kemiske natur af det reticulocytmodnende stof i leverextrakterne, og der skal her gøres rede for disse undersøgelser.

Som udgangsmateriale anvendte vi Hepsol fortior »MCO«, fabriksnummer (0—85), som fremstilles efter den af *Kyer* (1935) angivne metode.

Forsøg paa at udfælde den aktive fraktion af leverextrakten ved mætning med ammoniumslfat viste, at man ikke kunde faa hele den aktive fraktion udfældet, ligeledes lykkedes det heller ikke at fælde det aktive stof med Reinickesalt. Derimod viste det sig meget hurtigt, at dersom leverextrakten behandles med floridin mistede den sin aktivitet overfor reticulocytmodningen in vitro. Det var imidlertid meget vanskeligt at eluere det til floridin adsorberede aktive princip, saavel fortyndet saltsyre som ammoniakvand viste sig uanvendeligt, hvorimod 70 % alkohol og phenol var i stand til at eluere stoffet. Heraf var phenol absolut det bedste. Det herved vundne eluat var aktivt, men ikke nær saa stærkt som udgangsmaterialet. Vi prøvede saa at tilsætte leverextrakt, der var behandlet med floridin til det med phenol eluerede ekstrakt og fandt da til vor forbavselse, at virkningen af det sidste forøgedes kendeligt. Da en floridinbehandlet leverextrakt i sig selv er saa godt som uden virkning, maatte den altsaa indeholde stoffer, der var i stand til at aktivere det med phenol fra floridinet eluerede stof.

Vi havde saaledes faaet opdelt leverekstrakten i to fraktioner (se fig. 42): 1) en thermostabil, i sig selv lidet aktiv fraktion, der var i stand til aktivere virkningen af den anden (2) fraktion. Denne fraktion er thermolabil, og mere aktiv end den thermostabile fraktion.

Leverekstrakt (0—85)

Tørstof: 72 g i 500 ccm

Adsorberet til floridin,
elueret med phenol.
Tørstof: 60—65 mg

ikke adsorberet til floridin
Tørstof: ca. 72 g

Fraktion: H

Fraktion: D

Extraheret med butanol, fældet med æter. Fraktion: DJ
Tørstof: 65 g

Fraktion: DK
Tørstof: 5—8 g

Opløst i vand, fældet
med alkohol.
Tyrosin: 0,2 g

Fig. 42.

Undersøgelser over den kemiske natur af de i leverekstrakter
forekommende reticulocytmødende stoffer.

(Efter Jacobsen & Plum, 1942).

Nærmere undersøgelser af den thermostabile, aktiverende fraktion viste, at denne ikke kunde fældes med Reinickesalt, fosforwolframsyre, solv-kviksolv-kobber og blysalte. Vi fandt, at den aktiverende faktor kunde extraheres med butanol, hvoraf den atter kunde fældes med æthylæter. Denne proces koncentrerede præparatet ca. 5—10 gange. Stoffet blev her paa laboratoriet af Inger Gad identificeret som *l*-tyrosin.

Tyrosinanalyser af leverekstrakterne viste, at hele den ther-

mostabile fraktions virkning maatte skyldes tyrosinindholdet, ligesom vi viste, at syntetisk tyrosin havde samme aktive-rende evne, som det af leverekstrakten fremstillede tyrosin, jvfr. fig. 45. Tyrosinvirkningen er meget specifik; ingen af 14 andre undersøgte aminosyrer udover tyrosin gav aktivering, end ikke fenyalanin (Jacobsen & Plum, 1942).

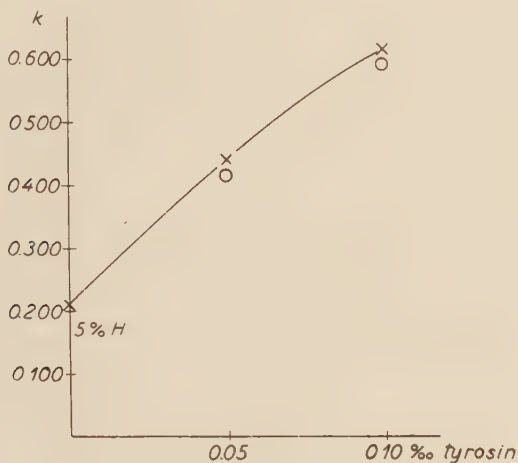


Fig. 43.

Aktiveringseffekten af syntetisk tyrosin og tyrosin vundet fra leverekstrakt.

× syntetisk l-tyrosin

○ tyrosin vundet fra leverekstrakt

Abscisse: ‰ tilsat tyrosin. Ordinat: Modningskonstant.

(Efter Jacobsen & Plum, 1942).

Undersøgelser af en række tyrosinderivater viste endvidere, at en bestemt molekylconfiguration er absolut nødvendig for at faa en aktiverende virkning. Angaaende vore forsøgsresultater henvises til tidligere meddelte forsøg, og man kan nøjes med at paapege, at OH-gruppen i tyrosinet er absolut nødvendig, og at den maa staa i para-stilling til sidekæden. Syregruppen i tyrosinets sidekæde kan derimod undværes eller modificeres, og aminogruppen kan erstattes med en metylamino- eller en oxy- eller en oxo-gruppe, men i saa fald faar man dog en betydelig nedsættelse af stoffets aktiverende evne.

Resumé:

Det reticulocytnodnende stof, som findes i leverextrakter bestaar af en thermolabil fraktion, som kan adsorberes til floridin og en thermostabil fraktion, der ikke kan adsorberes til floridin.

Den thermostabile fraktion er identificeret som tyrosin, og har i sig selv en omend ringe evne til at paavirke reticulocytnodningen in vitro. Den thermolabile fraktion er endnu ukendt, den er i sig selv noget aktiv, men dens reticulocytnodnende evne kan forøges betydeligt ved tilsætning af tyrosin.

ENOGTYVENDE KAPITEL

Undersøgelser over det reticulo-endotheliale systems betydning for koblingen mellem det aktiverbare reticulocytmodnende stof og tyrosin eller et tyrosinlignende stof.

Plasmaets modningsstoffer forholder sig anderledes end leverens, idet plasmaets virkning paa reticulocyterne ikke yderligere kan aktiveres af tyrosin. Der er to muligheder til forklaring heraf; enten indeholder plasma saa meget tyrosin eller andre aktiverende bestanddele, at en yderligere tyrosinaktivering ikke kan fremkaldes, eller ogsaa indeholder plasma modningsstofferne i en anden form end leverextrakterne. Den første mulighed maa udelukkes, idet en tilsætning af plasma til en i sig selv aktiverbar faktor (H-fraktionen, se side 160 ff.) ikke er i stand til at aktivere denne yderligere, hvad plasma vilde gøre, dersom det indeholdt aktiveringsstoffer. Behandler man derimod plasma med alkohol og derefter med floridin, faar man omdannet de i plasma værende stoffer til mindre aktive stoffer, der er aktiverbare af tyrosin, man faar altsaa her stoffer, der paa dette omraade ganske ligner leverextraktstofferne. Det er derfor rimeligt at antage, at man i plasma finder modningsstoffer, der bestaar af en omend temmelig løs forbindelse mellem tyrosin eller tyrosinlignende stoffer og en eller eventuelt flere ukendte faktorer. Denne antagelse bestyrkes af følgende undersøgelser foretaget af *Jacobsen & Plum* (1943).

Enkelte tidligere forsøg havde vist, at den største mængde modningsstoffer næst efter i plasma fandtes i organer som f. ex. lever, milt og knoglemarv. Alle disse organer har det til fælles, at det reticulo-endotheliale system er rigeligt repræsenteret i dem. Vi foretog derfor en del undersøgelser over det reticulo-

endotheliale systems betydning for koblingen mellem tyrosin eller tyrosinlignende stoffer og de endnu ukendte faktorer.

Disse undersøgelser blev gjort paa kaniner, hvor vi foretog en totalblokade af det reticulo-endotheliale system ved milt-

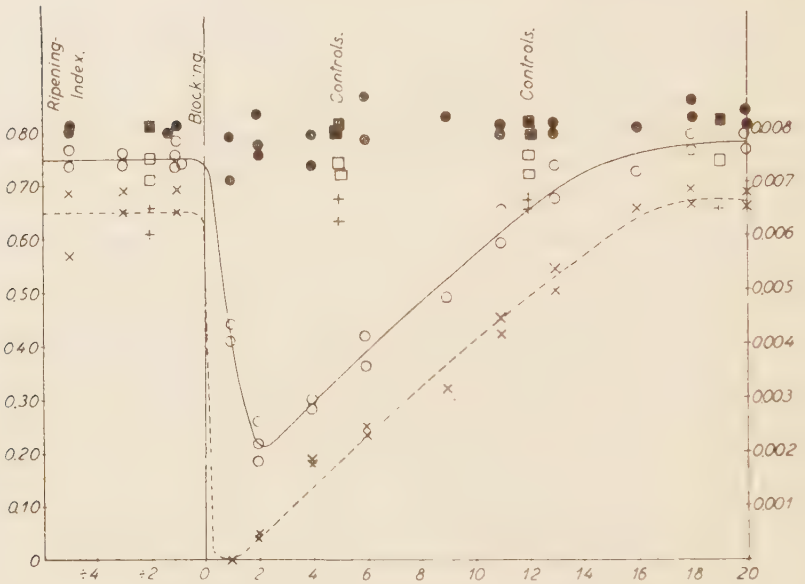


Fig. 44.

Modningsindex og funktion af det reticulo-endotheliale system før og efter blokade af det reticulo-endotheliale system.

- × funktion af det reticulo-endotheliale system hos opererede dyr
- + funktion af det reticulo-endotheliale system hos kontroldyr
- modningsindex hos opererede dyr uden tyrosin ● med tyrosin
- modningsindex hos kontroldyr uden tyrosin ■ med tyrosin

(Efter Jacobsen & Plum, 1943).

exstirpation og injektion af trypanblaat. Blokaden effektivitet blev kontrolleret ved hjælp af kongorodt. Med hensyn til de nærmere detaljer henvises til Jacobsen og Plum (1943).

Virkningen af totalblokaden paa modningsindex var forbausende. I løbet af 2 dage faldt modningsindex hos kaninerne til ca. $\frac{1}{4}$ af den oprindelige værdi, for derefter langsomt at

stige efter en kurve, der forløber parallelt med restitutionen af det reticulo-endotheliale system. Mest forbløffende var den opførsel, modningsstofferne viste overfor tyrosinaktiveringen.

Som det vil ses af fig. 44 havde tilsætningen af tyrosin til plasma, vundet fra dyrene inden blokaden, ingen virkning.

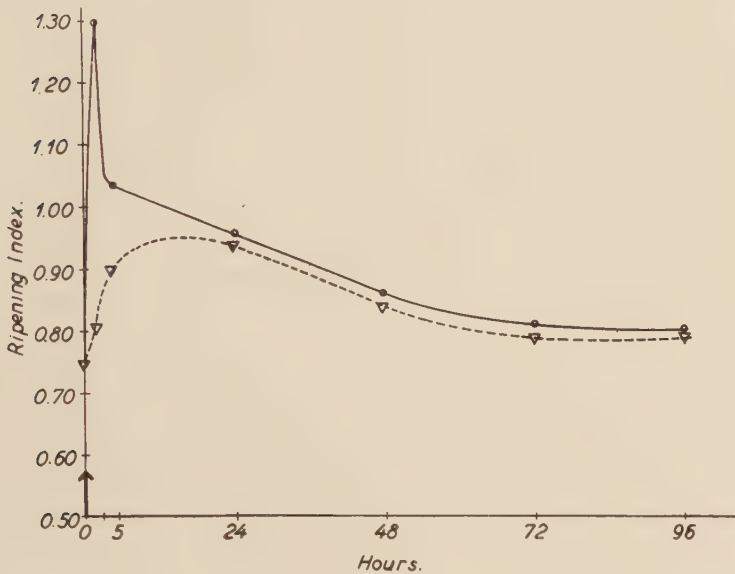


Fig. 45.

Modningsindex i kaninplasma efter injektion af leverextrakt.
 Ordinats: Modningsindex. Abscisse: Tid efter injektion i timer.

▽ . . . ▽ uden tyrosin ○ — ○ med tyrosin

(Efter Jacobsen & Plum, 1943).

Dette forhold, at tyrosin ikke var i stand til at forøge virkningen af det i plasma forekommende reticulocytmodnende stof fra normale dyr, havde man set hos talrige dyr. Man maa udfra denne iagttagelse slutte, at det i plasma forekommende stof er fuldt udviklet, d. v. s. at koblingen mellem det native reticulocytmodningsstof og tyrosin har fundet sted.

Efter blokaden ser man et fald i mængden af modningsstof i plasma, dette fald er størst umiddelbart efter indtræden af

totalblokaden, hvorefter der sker en jævn stigning indtil blokaden er ophævet, hvilket naas ca. 18 dage efter indgrebet.

Medens det normale plasma som nævnt ikke kan paavirkes af tyrosin, saa ser man, at plasmaets modningsstoffer ændrer karakter i tilslutning til blokaden, idet de nu overgaar fra at være uaktiverbare (5: færdigdannede) til at være aktiverbare, og netop paa ethvert stadium af blokaden i en saadan grad, at modningsindex ved tyrosinaktiveringen øges til normale værdier, d. v. s. plasmaværdien før blokaden. Samtidig med at blokaden langsomt ophæves, ophæves plasmaets evne ogsaa til at paavirkes af tyrosin, saaledes at naar blokaden er ophævet, er tyrosinvirkningen lig nul og modningsindex normal.

Disse forsøg kan kun tydes saaledes: Modningsstofferne i plasma berøves gennem blokaden af det reticulo-endotheliale system noget, der kan erstattes af tyrosin. Tidligere forsøg har vist, at ogsaa kemiske indgreb kan omdanne modningsstofferne i plasma saaledes, at de bliver tyrosinaktiverbare.

Man maa da indtil videre have lov til at antage, at det reticulocytmodnende princip i blodbanen bestaar af to eller rettere mindst to faktorer: En ukendt, der maa bindes til tyrosin eller et nærbeslægtet stof for at danne det endelige modningsprincip og et tyrosinlignende stof. Denne binding kan finde sted in-vitro, men dette kræver en langt højere tyrosinkoncentration end den, der normalt findes i plasma. I blodbanen, hvor tyrosinkoncentrationen er lav, kan bindingen mellem tyrosin og det ukendte stof kun finde sted i det reticulo-endotheliale system, og dersom dette blokeres, kan bindingen ikke finde sted, idet tyrosinkoncentrationen i blodbanen er for lav til at kunne aktivere. Den ukendte faktor dannes andetsteds i organismen og dens koncentration i plasma er uafhængig af funktionen af det reticulo-endotheliale system.

Det kan yderligere vises ved forsøg, at organismen kan overføre modningsstoffer fra en tilstandsform, hvor de kan aktiveres af tyrosin in vitro, til en, hvor yderligere tilsætning af tyrosin ikke forøger virkningen. Dette ses af forsøg foretaget af *Cl. M. Plum & Ruth Plum*. Vi sprøjtede en kanin intra-muskulært med Hepsol fortior, 10 ccm, som indeholder

betydelige mængder af modningsstoffer, der er tyrosinaktiverbare. Umiddelbart efter injektionen lader plasma sig aktivere med tyrosin (fig. 45), men efterhaanden stiger modningsindex i plasma, og evnen til tyrosinaktivering aftager.

Alle disse forsøg peger altsaa i retning af, at koblingen af tyrosin eller et tyrosinlignende stof til en endnu ukendt af det reticulo-endotheliale system uafhængig faktor, maa ske i det reticulo-endotheliale system.

Spørgsmaalet var da, hvor denne ukendte faktor dannes. Udfra de tidligere forsøg over enkelte organers indhold af modningsstoffer tog man dette spørgsmaal op, idet man regnede med, at der maatte findes et organ evt. flere, der indeholdt den ukendte faktor, der senere aktiveredes i det reticulo-endotheliale system.

Resumé:

I modsætning til de modningsstoffer, der findes i lever-extrakter, kan de i plasma forekommende modningsstoffer ikke aktiveres ved tilsætning af tyrosin.

Ved totalblokade af det reticulo-endotheliale system falder mængden af aktive modningsstoffer i plasma umiddelbart i tilslutning til blokaden, hvorefter den langsomt stiger efterhaanden som blokaden ophæves. Samtidig med at mængden af færdigdannede modningsstoffer aftager, bliver plasmaet tyrosinaktiverbart i modsætning til normalt plasma. Dette forhold gør det sandsynligt at antage, at tyrosin eller et tyrosinlignende stof i det reticulo-endotheliale system kobles til en endnu ukendt faktor, som derved omdannes til den form, hvori det reticulocytmodnende princip findes i plasma.

TOOGTYVENDE KAPITEL

Undersøgelser over forskellige organers indhold af reticulocytmodningsstoffer.

Disse undersøgelser falder i to afsnit, idet der først foretoges en del undersøgelser over pressesaft fra en del organer. Efter de i forrige kapitel omtalte undersøgelser over funktionen af det reticulo-endotheliale system og tyrosin, maatte man med al grund antage, at den mængde modningsstof, man bestemte i pressesaften, var den »færdigdannede« mængde. Den anden undersøgelsesrække bestod af undersøgelser af organextrakter, hvor man dels bestemte den forekommende aktive mængde, dels undersøgte, hvorvidt der i organextrakterne fandtes stoffer, der efter tyrosintilsætning var i stand til at paavirke reticulocytmodningen (aktiverbare modningsstoffer).

For at faa et indtryk af fordelingen i organismen af de reticulocytmodnende stoffer undersøgte en del forskellige organer. Disse organer valgtes ud fra synspunktet: aktive eller inaktive med hensyn til erytropoesen.

Til de inaktives gruppe medtoges: hjerne, hjerte, almindelig muskulatur, lunge, nyre og for enkelte dyrs vedkommende thymus, som aktive regnedes: lever, knoglemarv og ventrikel samt milt. Om denne sidstes virkemaade hersker der nogen diskussion, men da den under patologiske forhold kan være medvirkende, har man taget den med, selvom dens normale funktion oftest regnes for at være en destruktion af erythrocyterne.

1) *Undersøgelser af pressesaft.*

Til disse undersøgelser anvendtes organer fra oxer og svin samt for enkelte organers vedkommede ogsaa kaniner.

Fremstilling af pressesaften: Straks efter at organerne var kommet fra slagteriet, respektivt efter slagtingen af dyret paa laboratoriet, blev organerne skaaret itu, og alle makroskopiske blodkoagler fjernet. Derefter hakkedes de fint paa kødmaskine. De hakkede organer blev saa udrørt med tørt, rent sand og udglødet kiselgur til en »tør« grød, der derefter anbragtes i buchnerpresse. Saften blev presset ud under 400—500 atm. tryk. For de fleste organers vedkommende voldte det ringe vanskelighed at fremstille pressesaften, som straks efter udpresningen tilsattes et par draaber solbrolopløsning, hvorefter den hensattes i isskab til næste dag (ca. 16 timer). Udpresningen af knoglemarvssaften var temmelig vanskelig, og det udpresede var en tyktflydende olieagtig vædske, der ingenlunde var velegnet til undersøgelser straks. Efter henstand i isskabet var fedtet stivnet, og kunde med lethed fjernes, hvorefter man havde en tyndflydende vædske tilbage, der kunde bruges til undersøgelserne.

Opsætningen af prøverne blev foretaget som ved tidligere forsøg, men da pressesafterne ofte var uklare, blev de centrifugeret umiddelbart inden brugen. Undersøgelserne af disse pressesafter var dog ikke altid lige tilfredsstillende, idet der trods centrifugeringen fandtes partikler, der var modtagelige for brilliantkresylblaat, og som, naar de lagde sig over erythrocyterne i præparaterne, ofte fik disse til at ligne reticulocyter; ligeledes fandtes der ofte i blodprøverne efter nogen henstand store fnuggede udfældninger, der ligeledes var modtagelige for farvestoffet. Resultaterne er derfor alle mere eller mindre behæftet med en ikke ubetydelig usikkerhed.

Af tekniske grunde var man nødsaget til at lade prøverne henstaa det meste af et døgn i isskab inden de undersøgtes, men som kontrol paa det svind, der fandt sted i mængden af modningsstoffer, anstilledes dog et forsøg, hvor prøverne opsattes straks efter udpresningen og efter den sædvanlige henstandstid. Man fandt her, at svindet af de reticulocytmodnende stoffer var ringe, jvfr. tidligere undersøgelser over opbevaret plasma (se side 88 ff).

Resultaterne af disse undersøgelser fremgaar af tabel 42.

2) *Undersøgelser af ekstrakter af tørrede organer.*

Til disse undersøgelser er anvendt organer fra oxer, svin, kat, hund, kanin, marsvin, rotte og mus.

Fremstillingen af ekstrakterne: Umiddelbart efter at organerne var kommet fra slagteriet, respektivt efter, at dyrene var dræbt paa laboratoriet, blev organerne rensede, og de makroskopiske blodkoagler fjernet, hvorefter de blev hakket. Herefter blev de anbragt i tørreskab (max. temp. 42°), indtil de var tørre, d. v. s. et døgn. De tørrede organer knustes derefter i morter. 1 g af organpulveret tilsattes 10 ccm fysiologisk kogsaltopløsning, blandedes omhyggeligt, hvorefter opløsningen hensattes i isskab til næste dag (ca. 16 timer). Denne henstandstid blev saa vidt muligt overholdt, idet det viste sig, at man fik lavere værdier (et svind paa 25—30 %), dersom denne opløsning hensattes i to døgn. Umiddelbart før forsøgets begyndelse foretog man paany en opblanding af organblandingen, som derefter centrifugeredes.

Mens jeg i pressesaften kun havde undersøgt indholdet af »færdigdannede« modningsstoffer, saa anstilledes disse forsøg med dobbeltprøver, idet man i den ene prøve kun havde den rene ekstrakt, og i den anden prøve organekstrakt + tyrosinopløsning (0,1 ccm 1 % opl.), hvorved man altsaa skulde faa et udtryk dels for den færdigdannede mængde modningsstof, og dels for virkningen efter aktiveringen.

Resultater.

(Tabel 43).

Fordelingen af de stoffer, der er medvirkende ved reticulocytmodningen er temmelig varierende i organismen. Ved bedømmelsen af de fundne resultater maa man tage hensyn dels til fremstillingsmaaden af de prøvede organekstrakter, dels og ikke mindst til de forskellige organs indhold af blod *in vivo*, idet der findes modningsstoffer saavel i blodlegemerne som i plasma. (Kapitel IX).

Hjernen.

Den graa substans er hos de undersøgte dyr ringe udviklet, og den hvide substans er daarligt vasculariseret, saa hjernens indhold af blod maa betragtes som temmelig ringe. Man finder her kun ringe mængder af modningsstoffer, mindst naar det drejer sig om ekstrakt, noget større mængder i pressesaften. Dette forhold kan i det store og hele tilskrives, at der i pressesaften findes en del plasma og blodlegemesaft.

Ved tilsætning af tyrosin til hjerneekstrakten blev virkningen paa reticulocytmodningen ca. dobbelt saa stor; denne stigning er dog ikke særlig betydelig, idet tyrosinet selv, jvfr. Kapitel XX og XXI, er i stand til at paavirke reticulocytmodningen.

Lungerne.

Disse organer er rigeligt vasculariserede, men trods dette findes der alligevel ringe mængder af modningsstoffer. Mængden af modningsstoffer er ligesom i hjernen størst i pressesaften, hvilket maa tilskrives den rigeligere mængde blod i de friske organer. Med hensyn til aktiveringen af ekstrakten med tyrosin gør lignende forhold sig gældende som for hjernens vedkommende.

Thymus.

Undersøgelserne her viser, at man finder noget større indhold af de reticulocytmodnende stoffer i pressesaften end i ekstrakten, men dette kan ligesom i de andre tilfælde tilskrives organets blodfylde. Her finder ogsaa en ringe aktivering sted ved tilsætning af tyrosin.

Nyrerne.

Disse organer er kun undersøgt som organekstrakt, og de viser et meget ringe indhold af reticulocytmodnende stoffer. Tyrosinvirkningen er ogsaa her ganske ringe.

Muskulaturen.

Undersøgelserne over saavel hjerte- som tværstribet muskulatur viser ens forhold med hensyn til mængden af reticulocyt-modnende stoffer. Her finder man nogenlunde lige store mængder af modningsstoffer i pressesaft som i organextrakt beregnet udfra mængden af anvendt udgangsmateriale. Den udvundne organextrakt lader sig aktivere med tyrosin, saaledes at man derved faar en dobbelt saa stor virkning, og i forhold til denne stigning maa tyrosinets egen virkning siges at være ringe, saa her er der tale om en virkelig aktivering.

Milten

regnes for at være det organ, hvor den væsentligste nedbrydning af erythrocyterne finder sted. Dens øvrige betydning for erythropoesen er omdiskuteret. Da milten er stærkt vasculariseret, maa en del af den fundne mængde reticulocyt-modningsstoffer tilskrives plasma og blodlegemesaft, men trods dette er det alligevel betydelige mængder, der findes i organet. Ved tilsætning af tyrosin til organextrakten faas her ligeledes en fordobling af aktiviteten.

Leveren

har betydning saavel for bloddannelsen som for destruktationen af blodlegemerne. Her finder man store mængder af modningsstoffer, saavel i pressesaften som i den fremstillede organextrakt.

Ved undersøgelsen af kaninlever ser man ligesom ved undersøgelsen af kaninmuskulatur, at dersom kaninen gennem længere tid har været anæmiseret, og derved faaet en forøget mængde af modningsstoffer i sit plasma (Kapitel XVI), saa finder man ogsaa en stigning i mængden af modningsstoffer i leveren.

I modsætning til de fleste andre af de undersøgte organer viser leverextrakten en betydelig evne til at aktiveres ved tilsætning af tyrosin, idet man her finder en stigning, til tre gange den uaktiverede ekstrakts virkning.

Knoglemarven

er legemets største dannelsessted for blodlegemer, og da modningen af erythrocyter for størstedelen fuldendes i knoglemarven, skulde man vente at finde rigelige mængder af modningsstoffer her, men paa de undersøgte prøver finder man i pressesaften kun mængder af modningsstoffer, der er 20—25 % større end i milt og lever. Hertil maa bemærkes, at en stor del af den anvendte marv repræsenterer den gule knoglemarv, og at den anvendte pressesaft kun udgør en ringe del af den først udpressede saft, idet ca. 95 % efter henstanden i 24 timer fjernes som en stor fedtkage. Beregningen af anvendt materiale bliver altsaa væsentligt anderledes end i tabel 44, og det maa siges, at man, naar disse forhold tages i betragtning, finder et betydeligt større indhold af modningsstoffer her end i noget andet hidtil undersøgt organ.

Ved undersøgelsen af organekstrakten finder man et lignende indhold af modningsstoffer som i pressesaften, men her maa man ligeledes tage hensyn til, at det ikke udelukkende er rød knoglemarv, der er anvendt. Knoglemarvsextraktens indhold af modningsstof er i stand til at aktiveres med tyrosin til det dobbelte.

Betragter man de samlede resultater, saaledes som det fremgaar af tabel 43, vil det ses, at der hos de undersøgte dyrearter findes en nøje relation mellem mængden af modningsstoffer i plasma og mængden af det ved ekstraktionen vundne modningsstof i de undersøgte organer. En lignende relation ses mellem plasma og pressesaften fra de undersøgte organer (tabel 42).

Undersøgelserne af pressesaften gav en del oplysninger om, hvor man maatte forvente at finde disse modningsstoffer, men først efter, at det var lykkedes at vise tyrosinets betydning for aktiveringen af modningsstofferne (*Jacobsen & Plum*, 1942, 1943), kunde disse undersøgelser sige noget reelt om de forskellige organers indhold af modningsstoffer, idet man nu havde mulighed for at bestemme saavel den aktiverbare mængde som det fuldt udviklede modningsstofs mængde.

Ved ekstraktion med saltvand af de tørrede væv faar man frigjort den aktiverbare mængde af modningsstoffer + den eventuelle mængde af det færdige stof. Mængden af de saaledes ekstraherbare stoffer er varierende i organismens forskellige organer, men som helhed kan det siges, at mængden af disse stoffer er ringe i saa godt som alle organer, bestemt pr. g anvendt organmasse, men tager man de enkelte organer som helhed, er det trods alt ikke ringe mængder, der findes præformeret i de større organer, f. ex. i musklerne.

Mængden af de færdigdannede modningsstoffer beregnet pr. g af organet er konstant og lav for de fleste organs vedkommende, men man ser dog en noget større mængde i nogle af dem, som f. ex. knoglemarv, lever, milt og muskel.

Det forhold er i sig selv ganske interessant, men dersom man undersøger disse organextrakters evne til at paavirkes af aktiveringsstoffer, i dette tilfælde tyrosin, er det resultat, man kommer til, noget overraskende.

Plasma er som tidligere nævnt for alle udvoksede dyrs vedkommende ikke i stand til at paavirkes af tyrosin.

En del af de undersøgte organextrakter, stammende fra organer der ikke selv direkte deltager i blodlegemedannelsen, viser sig at kunne aktiveres til ca. det dobbelte af udgangsværdien, men denne stigning er ikke udelukkende betinget af tyrosinets aktiverende evne, men ogsaa betinget af det tilsatte tyrosins egenvirkning, idet forsøg havde vist, at tyrosinet selv ogsaa er i stand til, omend i meget ringe grad, at paavirke reticulocytmødningen *in vitro*.

Undersøgelser over de organer, der paa den ene eller anden maade er nøjere sammenknyttet med erytropoesen, viser derimod et ganske andet resultat:

Milten indeholder en del modningsstoffer, men disse er ligesom det gælder for en del andre organer, ikke væsentlig paavirkelige af tyrosin, hvorfor man her maa regne med, at de ekstraherede stoffer for storstedelen er færdigdannede modningsstoffer.

Leveren indeholder en del modningsstoffer, og deres paavirkelighed af tyrosin varierer temmelig meget fra dyreart til

	Rotter (3—8)	Kanin 1	Kanin 2
Musc. gastrocnemius	119	117	109
Musc. abdominal	143	173	153
Diaphragma	—	233	220
Hjerte	140	320	306
Lever	219	205	238
Hjerne	255	332	376
Milt	276	364	316
Corde spinalis	—	375	324
Ovarie ¹⁾	—	322	—
Tyktarm	316	—	369
Tyndtarm	400	381	378
Testes	499	470	478
Lunge	423	510	447
Nyre	399	569	502
Ventrikel ²⁾	509	508	386
Tun. mucosa pylor.	—	—	535
Tun. mucosa fund.	—	—	624
Mesenteriet	—	458	540
Subcutant væv	579	502	—
Cart. auricul.	—	502	567
Hud	—	627	603
Sene	568	683 ³⁾	595
Perirenalt fedt	623	—	—

¹⁾ Gennemsnit af 3—6 kaniner, uden korrektion.

²⁾ Tallene for rotter og kanin 1 sv. t. hele ventriklen
kanin 2 sv. t. tun. muscularis.

³⁾ Gennemsnit af 13 kaniner.

Tabel 40.

Den tilsyneladende extracellulære vædskefase angivet i g pr. kilo organ,
blodfrit og fedtfrit, beregnet ud fra Cl[—].

(Efter *Hastings og Manery*, 1939).

dyreart, men der ses dog regelmæssigt en betydelig aktivering af disse stoffers evne til at paavirke reticulocytmodningen in vitro, naar der tilsættes tyrosin.

Lignende forhold finder man ogsaa i ekstrakter af den røde knoglemarv.

Som tidligere nævnt findes der en ret stor koncentration af modningsstoffer i de i handelen værende leverpræparater, beregnet til behandlingen af pernicios anæmi. Under de talrige undersøgelser over disse modningsstoffers kemiske natur, der er gjort her paa laboratoriet (*Jacobsen & Plum, 1942*) har man ogsaa undersøgt disse stoffers evne til at dialysere, og man fandt, at de var yderst let dialysable. Endvidere undersøgte vi om de paagældende stoffer var ultrafiltrable, idet Dr. phil. *Brandt Rehberg* venligst fremstillede ultrafiltrater af Hepsol fortior »MCO« for os. Det viste sig da, at alle modningsstofferne var ultrafiltrable, idet remanensen var ganske ude af stand til at paavirke reticulocytmodningen in vitro, medens ultrafiltratet var af ganske samme styrke som den oprindelige Hepsol fortior.

Udfra denne viden om stoffernes evne til at ultrafiltrere er det af interesse at se fordelingen af disse stoffer i den extra- og intracellulære vandfase i organismen, hvilket lader sig gøre udfra de resultater, man har faaet ved undersøgelserne af pressesaften fra forskellige organer, idet man altsaa paa forhaand kan antage at koncentrationen af færdigdannet modningsstof i den extracellulære vandfase er den samme som i blodplasmaet.

Bestemmelsen af den extracellulære vædskemængde kan foretages blandt andet paa den af *Hastings & Manery (1939)* angivne maade udfra kendskabet til koncentrationen af Na^+ og Cl^- . Disse forskere finder, at man hos rotte og kanin maa regne med saadanne mængder af extracellulær vædske, som det fremgaar af tabel 40.

Den extracellulære vædskemængde i f. ex. musklerne er nogenlunde ens hos de forskellige dyrearter, medens der for andre organer er store saavel individuelle som artsvariationer. Gaar man nu udfra, at den extracellulære vædskemængde findes i samme forhold i pressesaften som i det oprindelige organ,

kan man udfra kendskabet til plasmaets modningsindex beregne, hvor stor en andel indholdet af modningsstoffer i den extracellulære fase andrager.

Som eksempel kan anføres:

Kanin (idet dette dyr er det eneste, hvor man har undersøgt pressesaft paa organer, hvor den extracellulære vandfase kendes).

	% extracellu- lært vand	Plasma- modnings- index (corr. f. den tilsatte citrat)	Plasmaets andel i organets modnings- index	Funden modnings- index for organet (Pressesaft)
Tværstribet musku- latur	23	0,99	0,13	0,11
Lever	22	0,99	0,22	0,20

Tabel 41.

Udfra de fundne værdier (tabel 42) vil man for disse organers vedkommende se, at man finder samme koncentration i plasma som i den extracellulære fase.

Dersom man finder højere koncentrationer i den extracellulære fase, maa dette tydes som, at der har været en større koncentration af modningsstoffer intracellulært, d. v. s. der har været tale om en opmagasinering.

Ventriklen.

Medens de hidtil omtalte organer ikke synes at kunne komme i betragtning som dannelsessted for de reticulocyt-modnende stoffer, skønt ganske vist nogle af de for erythropoesen vigtige organer indeholder kendeligt mere af det aktive thermolabile princip end af færdigdannet modningsstof, og kan betragtes som forraadsorganer, saa frembyder

ventriklen saadanne forhold, at man tør slutte, at modningsstofferne thermolabile bestanddel dannes her.

Undersøgelserne over ventriklens forhold er for alle dyrenes vedkommende foretaget paa ventriklen som helhed med undtagelse af oxen, hvor man udfra det histologiske billede maa sidestille løbemaven med ventriklen hos de andre dyr. Endvidere har jeg foretaget en opdeling af svineventriklen, dels efter det af *Meulengracht* (1935) angivne skema, dels efter ventrikelvæggens forskellige lag.

Resultaterne af disse undersøgelser ses i tabel 43, hvor man ser, at den rene ventrikelextrakt indeholder færdigdannede modningsstoffer i mængder, der svarer nogenlunde til, hvad man finder i en del af de andre undersøgte organer, men derimod aktiverbare stoffer i 5—10 gange større mængder.

Undersøgelserne over forholdene hos oxen viste, at man kun fandt et virkelig betydeligt indhold af saavel færdigdannede som aktiverbare modningsstoffer i løbemaven, medens bladmave, vom og netmave kun indeholdt ubetydelige mængder. Udfra disse iagttagelser maa man slutte, at dannelsen af det reticulocytmodnende stof maa være knyttet til den del af ventriklen, hvor den egentlige produktion af fordøjelsesenzymerne sker, idet bladmaven, netmaven og vommen kun har mekanisk betydning for fordøjelsen samt tillader visse bakterielle dekompositioner.

Dannelsen af stofferne er altsaa tilsyneladende knyttet til den secernerende del af ventriklen. For at undersøge dette, opdelt svineventriklen ad modum *Meulengracht*, og herved viste det sig, at der fandtes mest færdigdannet modningsstof i pyloruspartiet, mindst i fundus, men ved tilsætning af tyrosin fik man en nogenlunde ens aktivering, saaledes at man maa sige, at forholdet mellem færdigdannet stof og den aktiverbare mængde er ens i hele ventriklen.

Hvorvidt dannelsen af stofferne skulde være knyttet til tun. mucosa eller tun. muscularis blev undersøgt ved en spaltning af ventrikelvæggen. Her viste det sig, at mængden af færdigdannede stoffer var noget større, svarende til tun. mucosa, men her ligesom ved undersøgelserne af de forskellige

	Oxe		Svin		Kanin (ubehandlet)		Kanin (behandlet)	
	Modningsindex		Modningsindex		Modningsindex		Modningsindex	
Plasma	1.00 ¹⁾			0.80 ²⁾		0.71 ³⁾		0.93 ⁴⁾
Hjerne	0.17	0.19 (0.20)		0.08				
Hjerte	0.28	—		—				
Tværstribet Muskulatur	0.21	0.22 0.24 (0.23)		0.18 0.16 0.15		0.12 0.10		0.17 0.19
Thymus	—	0.15 0.16 (0.17)		0.09 — 0.10				
Lunge	0.13	— 0.11 (0.13)		0.10				
Lever	0.34	0.40 0.38 (0.41)		0.30 0.28 0.32		0.21 0.18		0.29 0.32
Milt	0.47	0.45 0.42 (0.45)		0.29 0.26 0.32				
Knoglemarv	—	0.37 0.39		0.26				
Ventrikel	—	—		0.11				
Ventrikel ÷ Pylorus ..	—	—		0.09 0.08				

Tabel 42.

Modningsindex for pressesaft af forskellige organer stammende fra forskellige dyr.

¹⁾ Plasmabestemmelse paa frisktaget blod (gennemsnit for 11 dyr).

²⁾ Plasmabestemmelse paa frisktaget blod (gennemsnit for 9 dyr).

³⁾ Plasmabestemmelse paa frisktaget blod (gennemsnit for 15 dyr).

⁴⁾ Plasmabestemmelse paa frisktaget blod (gennemsnit for 5 dyr).

De i parentes anførte værdier er bestemmelse paa den friske pressesaft. Den opbevarede pressesafts modningsindex er de umiddelbart foran staaende værdier.

	Oxe	Kat	Hund	Rotte	Svin	Kanin	Mus	Marsvin
Plasma ¹⁾	1.00	0.92	0.89	0.82	0.80	0.71	0.57	0.48
	—	—	0.92	0.84	—	0.74	0.59	0.51
Hjerne.....	0.08	0.07	0.07	0.04	0.06	0.06	0.05	0.03
	0.15	0.13	0.14	0.10	0.12	0.10	0.08	0.08
Hjerte	0.22	0.20	0.21	0.17	0.17	0.15	0.13	0.11
	0.50	0.43	0.45	0.36	0.37	0.34	0.28	0.25
Tværstribet Muskulatur	0.22	0.21	0.20	0.18	0.17	0.16	0.14	0.12
	0.43	0.40	0.40	0.37	0.30	0.29	0.26	0.21
Lunge	0.04	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03	0.04	0.03
	0.07	0.06	0.07	0.06	0.07	0.06	0.06	0.07
Nyre	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02
	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.05	0.06	0.03
Thymus.....	0.09	—	—	—	0.05	—	—	—
	0.13	—	—	—	0.10	—	—	—
Milt	0.19	0.18	0.17	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11
	0.33	0.31	0.30	0.49	0.28	0.24	0.19	0.16
Knoglemarv	0.60	—	—	—	0.48	—	—	—
	0.95	—	—	—	0.75	—	—	—
Lever	0.30	0.30	0.29	0.27	0.33	0.21	0.17	0.13
	1.06	0.93	0.21	0.89	0.94	0.70	0.61	0.56

Ventrikel.....	0.25 1.21	0.26 1.28	0.18 1.07	0.24 2.41
Tun. mucosa ventriculi.....				0.25 2.68
Tun. muscular. ventriculi....				0.13 1.63
Cardia.....				0.22 2.07
Fundus.....				0.18 1.94
Pylorus.....				0.28 2.61
Løbemave.....	0.29 1.91			
Vom + Netmave.....	0.06 0.13			
Bladmave.....	0.08 0.11			

¹⁾ Plasmaværdier bestemt ved tidligere forsøg (se Kapitel XIV).

Tabel 43.

Modningsindex for organextrakter (øverste tal). (1 g tørret organ ekstraheret med 10 ccm saltvand.)

Modningsindex for organextrakter tilsat tyrosin (0,1 ccm 1^o/₁₀₀) (nederste tal).

Organerne fra oxer og svin stammer fra flere forskellige dyr. De øvrige dyreorganer stammer fra samme dyr.

O x e	Udgangs- mængde g	Efter Tørring g	2 g Tørstof svarende til g frisk Organ	Udgangs- mængde g	Vundet Pressesaft ccm	2 cc Presse- saft svarende til g frisk Organ
Hjerne	500	96	10.4	320	98	6.5
Hjerte	500	102	9.8	500	130	7.7
Tværstribet Muskulatur	400	122	6.6	500	148	6.7
Lunge	500	104	9.6	500	145	6.9
Nyre	380	72	10.5	—	—	—
Pancreas	440	115	7.7	—	—	—
Thymus	176	62	5.7	250	75	6.6
Milt	460	104	8.8	900	384	4.6
Knoglemarv	57	19	6.0	250	72 ¹⁾	7.0
Lever	150	42	7.2	600	182	6.6
Ventrikel	—	—	—	—	—	—
Tun. mucosa ventriculi	—	—	—	—	—	—
Tun. muscular. ventriculi	—	—	—	—	—	—
Cardia	—	—	—	—	—	—
Fundus	—	—	—	—	—	—
Pylorus	—	—	—	—	—	—
Løbemave	1500	425	7.0	—	—	—
Vom + Netmave	6700	1460	9.2	—	—	—
Bladmave	1800	235	15.4	—	—	—
Lymfekirtler	—	—	—	—	—	—

Svin

Hjerne	—	—	—	—	—
Hjerte.....	206	46	9.0	—	—
Tværtribet Muskulatur.....	414	109	7.6	500	144
Lunge.....	160	40	7.8	—	—
Nyre.....	210	39	10.8	—	—
Pancreas.....	133	43	6.2	—	—
Thymus.....	88	24	7.3	100	26
Milt	72	16	9.0	66	29
Knoglemarv.....	43	14	6.2	127	45
Lever.....	400	130	6.2	400	143
Ventrikel	1000	178	11.2	—	—
Tun. mucosa ventriculi.....	250	37	13.5	—	—
Tun. muscular. ventriculi	310	50	12.4	—	—
Cardia	1000	180	11.1	—	—
Fundus.....	1000	179	11.1	—	—
Pylorus.....	1000	154	13.0	—	—
Løbemave	—	—	—	—	—
Vom + Netmave.....	—	—	—	—	—
Bladmave.....	—	—	—	—	—
Lymfekirtler	432	70	12.3	—	—

¹⁾ Maalt umiddelbart efter udpresningen.

Tabel 44.

Resultater af fremstilling af pressesaft og tørstof af de forskellige organer.
De anvendte organer stammer fra forskellige dyr.

ventrikelpartier, viste det sig, at forholdet mellem færdigdannet stof og den aktiverbare mængde var saa at sige ens i begge de undersøgte lag.

Spørgsmaalet om, hvorvidt ventriklen secernerede det aktiverbare stof blev undersøgt paa fastende ventrikelsekret fra mennesker.

Det ophentede ventrikelsekret havde en pH omkring 2, men

					Modningsindex for den neutr. Mavesaft	
		pH	Pepsin mg %	Tørstof %	1.8 ccm Mavesaft + 0.2 NaCl 0.9 %	1.8 ccm Mavesaft + 0.2 Tyrosin 1 %
R.P.	♀ 28 Aar	1<pH<2	6.24	—	0.113	0.543
J.H.	♂ 37 »	1<pH<2		0.38	0.104	0.545
E.K.	♀ 27 »	1<pH<2	—	0.46	0.136	0.628
J.M.	♀ 25 »	1<pH<2		0.39	0.116	0.570
C.M.P.	♂ 29 »	1<pH<2	6.32	—	0.120	0.563

Tabel 45.

neutraliseredes med n/10 NaOH til pH 7, for det anvendtes til forsøgene.

Indholdet af færdigdannede stoffer i ventrikelsekretet er temmelig ringe, men ogsaa her ser man en betydelig aktivering ved tilsætning af tyrosin, saaledes at der i ventrikelsekretet ogsaa findes betydelige mængder af det aktiverbare stof.

Alle disse undersøgelser viser, at der i ventrikelvæggen findes store mængder af modningsstoffer, vel at mærke modningsstoffer, der endnu ikke er fuldt funktionsdygtige, idet de mangler tyrosin eller et tyrosinlignende stof.

Disse resultater tyder meget paa, at den egentlige produktion af de aktiverbare stoffer finder sted i ventrikelvæggen, hvorfra de fores til det reticulo-endotheliale system, hvor saa plasmamodningsstofferne færdigdannes. Dette kan formentlig ske enten direkte fra ventriklen ad blodvejen eller ved, at de

native modningsstoffer secernerer ud gennem ventriklens kirtler i ventrikelsaften, derfra med føden føres ned i tarmkanalen, hvor saa resorptionen finder sted.

Disse forhold har en forbavsende lighed med dem, der er fundet ved dannelsen af »intrinsic faktor« af det anti-perniciøse princip.

Hermed er der atter fundet et omraade, hvor ventriklen har betydning for opretholdelsen af det normale røde blodbillede, en betydning der første gang med sikkerhed blev bevidnet gennem *Castles* undersøgelser (1929).

Resumé:

Der er foretaget bestemmelse af reticulocytmodnende stoffer, dels i pressesaft, dels i ekstrakter af tørrede organer, for de sidstes vedkommende er baade den aktive mængde og den tyrosinaktiverbare mængde bestemt.

Det viser sig, at der hos de enkelte dyr er en nøje relation mellem mængden af modningsstoffer i plasma og i de undersøgte organer.

Mængden af færdigdannede modningsstoffer er ret lav og konstant, beregnet pr. gram af de forskellige organer, men der findes dog lidt mere i enkelte organer, f. ex. knoglemarv, lever, milt og muskler. Anderledes forholder det sig, naar man undersøger de enkelte organers modningsstoffers evne til at aktiveres af tyrosin. Det viser sig her, at kun nogle af de organer, der har betydning for erytropoesen, indeholder tyrosin-aktiverbare stoffer i større mængde; det drejer sig her i første række om ventriklen, men ogsaa lever og rød knoglemarv indeholder disse stoffer.

Hvad ventriklen angaar viser det sig, at man ved tyrosinaktivering af de præformerede modningsstoffer faar virkningen 5—10 gange forøget. Det viser sig yderligere, at dannelsen af disse modningsstoffer er knyttet til den secernerende del af ventriklen, og at der findes mest færdigdannet, svarende til pyloruspartiet, men forholdet mellem færdigdannet og tyrosinaktiverbart stof er ens i hele ventriklen. Tunica mucosa er det lag i ventrikelvæggen, der indeholder mest færdigdannet, men

ogsaa ved opdelingen af ventrikelvæggen i dens forskellige lag viser forholdet mellem færdigdannet og tyrosinaktiverbart stof sig at være ens.

I fastende ventrikelsekret fra mennesker findes en ringe mængde færdigdannet stof, men ved tyrosinaktivering finder man store mængder aktiverbart modningsstof.

Der er saaledes en paafaldende overensstemmelse mellem forekomsten af aktiverbare reticulocytmodnende stoffer og den af *Castle* beskrevne »intrinsic factor«.

ENOGTYVENDE KAPITEL

Tidligere undersøgelser over ventriklens betydning for erytropoesen.

Siden meddelelsen fra Amerika (1926) kom om *Minot & Murphy's* behandling af den perniciøse anæmi med raa lever, er der arbejdet utallige steder med forsøg og undersøgelser paa opklaring af denne sygdoms opstaaen.

Minot & Murphy's undersøgelser byggede for en stor del paa *Whipple's* forsøg, hvor han havde vist, at man ved hjælp af lever og en del andre stoffer kunde fremskynde blodregenerationen hos hunde, der var anæmiserede gennem aareladning.

Mens *Minot & Murphy's* leverbehandling tilsyneladende helbredte patienterne fuldstændigt, viste det sig ved nærmere undersøgelse, at den for sygdommen saa karakteristiske achyli ikke svandt.

Dette gav anledning til talrige undersøgelser. En af de første, der gav sig i lag med disse undersøgelser, var *Castle* (1929), der viste, at dersom man giver et normalt menneske et maaltid kød og kort tid efter indtagelsen af dette ophenter ventriklens indhold og viderebehandler dette med saltsyre in vitro og giver det til en patient med pernicios anæmi, vil man faa en pludselig reticulocytstigning af samme art, som man ellers finder ved leverbehandling.

Indgiften af kød alene kunde ikke fremkalde reticulocytstigning, og heller ikke viste indgift af ventrikelsaft eller saltsyre alene nogen effekt.

Castle gik da ud fra, at mavesaften + kød + saltsyre var nødvendige, hvilket han viste dels udfra de ovennævnte forsøg, dels gennem to andre forsøg, idet han dels prøvede at

behandle kød med saltsyre og pepsin in vitro, men dette gav intet resultat, hvorimod kød + saltsyre + mavesaft gav det ventede resultat. Dersom *Castle* indgav mavesaft fra et normalt individ til en patient med pernicios anæmi, fik han intet resultat, medmindre han samtidig gav kød; indgift af kød en vis tid efter indgivelsen af mavesaft gav heller intet resultat.

Castle og hans medarbejdere kom da til det resultat, at ventriklen selv maatte secernere et stof (»intrinsic factor«), der i forbindelse med et stof i kødet (»extrinsic factor«) skulde danne en for erythropoesen nødvendig faktor. Den af maven secernerede faktor (»intrinsic factor«) var efter deres angivelse thermolabil.

Den dannede, for erythropoesen nødvendige faktor, antages saa ad blodvejen at føres til leveren, hvor den opmagasineres og forbindes med »extrinsic factor«, hvorfor man ved leverbehandlingen tilfører organismen den færdige faktor, der er thermolabil.

De følgende aar bragte nye undersøgelser, *Sharp, E. A.* (1929), *Sturgis & Isaacs* (1929), *Conner* (1930), *Wilkenson* (1930), viste alle, at man ved behandling af patienter med pernicios anæmi, med tørret, affedtet svinemave kunde opnaa fuldstændig remission i lighed med leverbehandlingen. Dermed var det vist, at der i ventrikelvæggen fandtes præformede stoffer, der var i stand til at paavirke erythropoesen. Samtidig vistes det, at man kunde finde stoffer, der paavirkede erythropoesen i talrige andre organer: Nyre (*McCann*, 1928), fiskelever (*Connery*, 1930), hjerne (*Ungley*, 1931), placenta (*Mach*, 1931).

Da det nu saaledes var vist, at man i ventriklen fandt den saakaldte antiperniciøse faktor, var et nyt spørgsmaal bragt frem: Hvor dannes denne faktor?

Af de forskere, der har arbejdet med disse problemer, maa nævnes *Isaacs & Sturgis* (1929), *Conner* (1930), *Bondarenko & Dulcin* (1931), *Burgess & Morgan* (1931), *Wilkenson* (1932), der alle har undersøgt i hvilket af ventriklens lag dannelsen af dette stof fandt sted. *Isaacs & Sturgis* mener udfra deres forsøg at kunne vise, at dannelsen finder sted i tunica mucosa, idet indgift af tørret, affedtet tunica muscularis ingen

reaktion giver, hvorimod tunica mucosa giver en tydelig reaktion, selvom man faar den bedste reaktion ved indgift af begge dele.

Men ventriklen er sammensat af flere dele, der hver for sig lader sig histologisk adskille, fundus, cardia og pylorusdelen, og spørgsmaalet var da, hvilken af disse dele, der aktivt deltog i dannelsen af »intrinsic factor«.

Mange undersøgelser over funktionen af de forskellige ventrikelpartier er foretaget, bl. a. af *Henning & Stieger* (1930), *Henning & Brugsch* (1931), *Ivy, Morgan & Farrell* (1931), *Gutzeit & Hermann* (1931), men alle de resultater, disse undersøgere er kommet til, er temmelig usikre og ofte modstridende, hvad der for største delen skyldes mangelfulde tekniske forudsætninger. Først med *Meulengracht og medarbejderes* grundige undersøgelser (1935) over disse forhold er der virkelig kommet et resultat, der viser, at dannelsen af »the intrinsic factor« er knyttet til pyloruspartiet.

Meulengracht og medarbejderes forsøg er mange og omhyggelige, de er baseret dels paa en nøje histologisk gennemgang af de forskellige organpartier, dels paa en klinisk gennemprøvning af de fremstillede præparater.

Resultatet af disse undersøgelser kan sammenfattes saaledes: I svineventriklen dannes løbe, pepsin og saltsyre af funduskirtlerne, men ikke i pyloruspartiet, medens *Castle's* »intrinsic factor« ikke synes at kunne produceres af funduskirtlerne, men udelukkende af pyloruskirtlerne; disse kirtler er hos svinet ikke nøjagtigt afgrænset til pyloruspartiet, men strækker sig saavel op i cardiagebetet som ned i duodenum.

Dette maa ud fra vor viden om den perniciøse anæmi hos mennesker lede tanken hen paa, at sygdommen kan være betinget af en mere eller mindre udtalt atrofi af pylorusorganet.

Meulengracht og medarbejdere viste altsaa, at indgift af funduspulver stammende fra svin ikke var i stand til at give den ønskede reticulocytstigning, hvorimod saavel pylorus som duodenum, ja endog hele tarmkanalen, var i stand til at give reticulocytstigning og den derefter følgende remission hos patienterne.

Da man ved den perniciosø anæmi ser en konstant optræden af atrofi af ventrikelslimhinden, og der som følge af ventrikelresektion hos mennesker ofte ses perniciosalignende anæmier, ligesom man som nævnt har set en terapeutisk virkning af tørret svineventrikel, var det naturligt, at man hos dyr forsøgte at fremkalde pernicios anæmi gennem operative indgreb paa mave-tarmkanalen.

Talrige forsøg er gjort med ventrikelresektion hos hunde, men ingen af disse gav et udtalt sygdomsbillede i lighed med sygdomsbilledet hos mennesker med pernicios anæmi.

Ved ventrikelexstirpation hos hunde faar man en hypochrom anæmi. *Petri og medarbejdere* har gennem en række grundigt gennemarbejdede forsøg ikke kunnet fremkalde perniciosø anæmier hos hunde, hverken naar der var foretaget total ventrikelresektion eller resektion af pylorus- eller Brunnerglandelpartiet, hvorimod de fremkaldte en hypochrom anæmi med reticulocytreaktion, men uden megalo-anisopoikilocytose. Deres anæmiformer kan deles i tre typer:

1) en hypochrom tilstand med polycytæmitendens, denne type fremkom hos hunde, hvor der var foretaget exstirpation af pylorus + Brunnerglandelpartiet i duodenum.

2) En simpel anæmi, der udviklede sig hurtigt til høj grad, og ofte førte til døden; denne opstod hos dyr, hvor hele ventriklen + den tilstødende del af duodenum (Brunnerglandelpartiet) var fjernet.

3) En simpel, moderat, stationær anæmi, som opstod enten som følge af exstirpation af fundus eller exstirpation af pylorus + hele duodenum.

Karakteristisk for alle tre anæmiformer var, at ingen af dem viste tegn paa hyperchromi, megalocytose eller leukopeni; alle anæmiformerne reagerede paa tilskud af jern, men gav ingen væsentlig reaktion ved indgift af lever eller ventrikelpræparater.

Som helhed kan man ikke hos hunde fremkalde en experimentel pernicios anæmi, hvad der lader til ikke at være noget specielt for hunden, idet talrige andre forsøgsdyr har været anvendt, og det er endnu ikke lykkedes experimentelt at fremkalde typiske tilfælde af denne sygdom.

Undersøgelser af *Petri og medarbejdere* (1941) har vist, at dersom man fjerner ventriklen hos svin, vil man efter nogen tids forløb ikke kunne fremstille et aktivt leverpræparat af lever fra det paagældende dyr. Dersom man fjerner funduspartiet hos svin, vil man kunne fremstille en leverextrakt, der enten er inaktiv eller kun lidet aktiv, hvad der viser, at funktionen af fundus ikke er uden betydning for dannelsen af »intrinsic factor«.

Man ser altsaa, at siden *Castle's* iagttagelse af virkning af ventrikelsaft ved den perniciøse anæmi, er der stadig sket en videre udforskning af ventriklens betydning for denne sygdom, men den har ikke ført til nogen afgørende forklaring.

Disse iagttagelser taget sammen med de i dette arbejde anførte resultater, hvor det er vist, at man finder størst mængder af aktiverbare reticulocytmodnende stoffer i ventriklen, og derefter jævnt aftagende over knoglemarv, lever, milt til plasma, tyder paa, at der eventuelt kan være en endnu ikke klarlagt relation mellem det reticulocytmodnende stof og den antiperniciøse faktor, hvori muligvis ogsaa det reticulo-endotheliale system og tyrosinomsætningen har betydning.

Resumé:

Castle (1928—29) viste, at ventrikelsaft fra normale individer indgivet sammen med kød til patienter med pernicios anæmi havde en helbredende virkning.

Sturgis & Isaacs (1929) viste, at den af *Castle* beskrevne »intrinsic factor« var knyttet til tunica mucosa.

Meulengracht og medarbejdere (1935) viste, at dannelsen af den antiperniciøse faktor var knyttet til pylorusorganet.

Petri og medarbejdere (1935) viste, at man ved exstirpation af hele ventriklen hos hunde kunde fremkalde en svær hypochrom anæmi, medens exstirpation af pylorusorganet alene gav en hypochrom anæmi med polycytæmitendens.

Petri og medarbejdere (1941) viste, at funduspartiet var af betydning for dannelsen af den antiperniciøse faktor hos svin.

RESUMÉ

AF AFHANDLINGEN SOM HELHED

Formaalet med de i dette arbejde gengivne undersøgelser har været at studere de betingelser, hvorunder reticulocyter, der er et normalt gennemgangsled i de røde blodlegemers udvikling, modnes til færdige erythrocyter.

Reticulocyterne paavises ved en vitalfarvning af en netagtig struktur i cellerne, der under modningen svinder mere og mere. Reticulocyterne modnes langsomt i en ren saltopløsning, men udviklingen paaskyndes af visse stoffer, der findes i dyre- og menneskeplasma og i rigelig mængde i saadanne leverextrakter, som anvendes mod pernicios anæmi.

Forsøg paa isolering af det reticulocytmodnende stof har vist, at dette bestaar af mindst to bestanddele, af hvilke den ene er thermolabil, og den anden thermostabil. Den sidste har vist sig at være identisk eller meget nær beslægtet med tyrosin. Forbindelsen mellem tyrosin og den thermolabile faktor foregaar i organismen i det reticulo-endotheliale system, men kan frembringes uden for organismen ved tilsætning af tilstrækkelig store tyrosinmængder.

Det er sandsynliggjort, at den thermolabile faktor dannes i ventriklen, og dens forhold viser paafaldende overensstemmelse med hvad man har fundet m. h. t. »the intrinsic factor«.

FØRSTE AFSNIT

I. Kapitel. *Tidligere reticulocytmodningsforsøg.*

Den litteratur, der har relation til de i afhandlingen behandlede spørgsmaal, gennemgaas. Det paapeges, at reticulocy-

terne er udviklingstrin indenfor udviklingen af de røde blodlegemer. Tidligere forsøg paa at bestemme reticulocyternes udviklingstid diskuteres.

II. Kapitel. *Reticulocyttudviklingen belyst ved »differentialtælling« a. m. Trachtenberg.*

De opstillede skemaer til adskillelse af de forskellige alderstrin af reticulocyter diskuteres. Forskellige forfattere har ment, at de ved at foretage differentialetælling af reticulocyterne kan faa et indtryk af erytropoesens omfang. Det fremhæves, at dette dog kun gælder med visse forbehold.

III. Kapitel. *Reticulocyt-mængden i organismen.*

Paa grundlag af tidligere foretagne undersøgelser over reticulocyternes udviklingstrin anstilles nogle betragtninger over, hvorvidt alle celler fra det erytropoetiske system forlader knoglemarven indeholdende substantia-granulo-filamentosa. Det maa ud fra det daglige henfald af erythrocyter, beregnet ud fra urobilinudskillelsen antages, at mængden af reticulocyter i blodbanen hos et menneske kun er i stand til at dække ca. 6 % af dette henfald, hvorfor største delen af cellerne maa forlade knoglemarven uden substantia granulo-filamentosa, d. v. s. som fuldmodne erythrocyter.

ANDET AFSNIT

IV. Kapitel. *Experimentel reticulocytose fremkaldt ved aare-ladning.*

Kapitlet omhandler den anvendte teknik til fremkaldelse af reticulocytose hos kaniner, idet antallet af reticulocyter hos normale kaniner er alt for ringe til at gennemføre kvantitative undersøgelser. Gennem daglig hjertepunktur med udtømmelse af 30—50 ccm blod opnaas en udtalt reticulocytose, der gør kaninerne anvendelige til forsøgene.

V. Kapitel. *Bestemmelse af reticulocyt-mængden.*

Kapitlet omhandler nogle af de metoder, der kendes til tælling og farvning af reticulocyter, idet der lægges vægt paa den i dette arbejde anvendte metodik. Endvidere gives en kort oversigt over de tællefejl, som de her gjorde forsøg er behæftet med udfra den af *Bernoulli* angivne formel.

VI. Kapitel. *Forsøgsteknik.*

Blod fra en anæmiseret kanin centrifugeres og blodlegemerne vaskes med saltvand. De saaledes vaskede blodlegemer sættes op i dværgreagensglas med opløsninger, hvis virkning paa reticulocytmodningen man vil undersøge, og holdes blandet ved konstant temperatur. Ved forsøgets begyndelse og til bestemte tider udtages der prøver og antallet af reticulocyter i forhold til erythrocyter bestemtes efter farvning. Svindet i reticulocyternes antal giver et udtryk for disse cellers modning.

Da den hastighed, hvormed reticulocyterne forsvinder, det vil sige udvikles til erythrocyter, er afhængig af det milieu, hvori de opholder sig, er man berettiget til at tale om modningsstoffer for reticulocyterne.

VII. Kapitel. *Egne undersøgelser over reticulocytudviklingen med henblik paa fordelingen af de forskellige aldersgrupper af disse celler.*

Det fald, der under de her opstillede modningsforsøg ses i reticulocyt-mængden, er ledsaget af en tilsvarende forskydning af reticulocyterne fra yngre til ældre typer, hvorfor man maa være berettiget til at slutte, at faldet i reticulocyt-tallet skyldes en progressiv modning af disse celler til røde blodlegemer og ikke en selektiv destruktion af reticulocyterne under henstand. De her foretagne differentieltællinger af reticulocyterne med henblik paa de forskellige alderstrin viser, at forskydningen fra mindre modne til mere modne typer er større jo større koncentrationen af de reticulocytmodnende stoffer er i opslenningsvædsken.

VIII. Kapitel. *Modningsindex.*

Ved udarbejdelsen af de fundne variationer af reticulocyt-mængden viste det sig, at den hastighed, hvormed svindet af reticulocyterne fandt sted, lod sig udtrykke gennem den for den monomolekylære reaktion gældende hastighedskonstant.

Undersøgelserne over reticulocytmodningen viste, at der var to faktorer, der gjorde sig gældende, dels den spontane modning, der er betinget af modningsstoffer i selve blodlegemet, dels den modning, der er betinget af stoffer, der findes i de vædske, hvori blodlegemerne opslemmes.

Den spontane modning er uafhængig af reticulocyt-mængden hos det enkelte dyr, men varierer fra dyr til dyr. Den modning, der er betinget af mængden af modningsstoffer i den vædske, hvori blodlegemerne opslemmes, er ligeledes uafhængig af reticulocyt-mængden hos det enkelte dyr, men varierer fra dyr til dyr, hvorfor man har valgt at indføre en standard for at faa sammenlignelige resultater, da man ikke har kunnet anvende samme dyr til samtlige forsøg. Foruden at indføre en standard har man indført en enhed, og til denne har man valgt koncentrationen af modningsstoffer i oxeplasma. Som standard har man valgt en Hepsol fortior opløsning (fabrikationsnr. 0-66) 1 %, der indeholdt 0,97 enheder.

IX. Kapitel. *Undersøgelser over blodets indhold af reticulocytmodningsstoffer.*

Der gores kort rede for indholdet af modningsstoffer i plasma og serum, hvor det ses, at der i serum findes ca. 33 % mindre mængde modningsstof end i plasma. Blodlegemesaften, vundet ved hæmolysering af blodlegemer, viser, at der ogsaa intracellulært findes en om end ringe mængde modningsstoffer.

X. Kapitel. *Undersøgelser over opbevaringstidens og opbevaringstemperaturens indflydelse paa serum og plasma's evne til at paavirke reticulocytmodningen.*

Indholdet af modningsstoffer i plasma nedsættes betydeligt ved opbevaring af blodet med blodlegemer i, og nedgangen

synes at være større, jo flere reticulocyter der findes i blodprøven.

Ved henstand af plasma 24 timer ved 4°, ses et svind paa ca. 15 %.

XI. Kapitel. *Temperatures indflydelse paa reticulocytmodningen in vitro.*

Reticulocytmodningen in vitro viser sig ved temperaturændringer ikke at følge den af *van't Hoff* angivne formel:

$$V_{t+10} = V_t \cdot Q_{10},$$

idet man finder, at Q_{10} aftager med stigende temperatur, et forhold der ses ved talrige andre biologiske processer. Ændringen i Q_{10} er uafhængig af koncentrationen og oprindelsen af de tilsatte modningsstoffer.

XII. Kapitel. *Reticulocytmodningens afhængighed af tilsatte modningsstoffer og disses mængde og koncentration.*

Forsøgene viser, at den fundne modningskonstant er proportional med koncentrationen af modningsstoffer, men indenfor det undersøgte omraade uafhængig af den anvendte absolute mængde af modningsstoffer.

XIII. Kapitel. *Undersøgelser over forskellige stoffers indflydelse paa reticulocytmodningen in vitro.*

Ved undersøgelser over forskellige aminosyrers indflydelse paa reticulocytmodningen viste det sig, at de fleste aminosyrer havde en vis omend meget ringe evne til at virke accelererende paa reticulocytmodningen. En tyrosinopløsning paa 1 ‰ har f. ex. en modningsindex paa 0,24. Man kan i stedet for den foreslaaede standard, Hepsol fortior, anvende en tyrosinopløsning paa 1 ‰ som standard, men det er dog ikke tilraadeligt, da fejlen paa de smaa ændringer i reticulocyttallet er procentisk betydeligt større, end dersom man anvender stoffer, der giver en hurtig ændring af reticulocytmængden, altsaa stoffer, der har en større modningsindex.

TREDIE AFSNIT

XIV. Kapitel. *Variationer i plasmas modningsindex hos forskellige dyrearter.*

Ved de her foretagne bestemmelser af indholdet af modningsstoffer i plasma hos forskellige dyrearter, har der, idet der overalt er arbejdet med samme fortyndinger af plasma, vist sig en nøje relation mellem reticulocyt-mængden i det cirkulerende blod og koncentrationen af modningsstoffer i plasma, saaledes at en høj reticulocytprocent findes sammen med en lav modningsindex og omvendt.

Udfra den kendsgerning, at oxen ingen reticulocyter har i det cirkulerende blod, og fordi den har den størst fundne mængde af modningsstoffer, har man valgt at anvende oxeplasmas modningskonstant til enhed for mængden af modningsstoffer i de undersøgte prøver.

XV. Kapitel. *Undersøgelser over indholdet af modningsstoffer i plasma hos unge dyr.*

Mængden af modningsstoffer hos rotteunger er størst ved fødslen og aftager derefter jævnt svarende til faldet i reticulocyt-mængden, og naar først værdier, der er overensstemmende med, hvad man finder hos den voksne rotte, naar det øvrige blodbillede er som hos den voksne rotte.

Man kan heraf slutte, at hvor der, som det ses hos rotten i den første levetid, er tale om en stærkt forøget hæmatopoese, findes der ogsaa større mængder af de stoffer, der betinger udviklingen af reticulocyter. Et forhold, der ganske svarer til de tidligere omtalte iagttagelser hos kaniner med experimentel reticulocytose, fremkaldt ved aareladning.

XVI. Kapitel. *Den experimentelle reticulocytoses og anæmis indflydelse paa modningsindex.*

Ved den anæmi, der opstaar som følge af den daglige aareladning, ses en reticulocytose; man har derfor undersøgt ændringerne i koncentrationen af de stoffer, der betinger modnin-

gen af reticulocyterne og har fundet, at der samtidigt med reticulocytstigningen kommer en forøgelse af disse stoffer i blodbånen. Man ser altsaa det forhold, at en stor koncentration af modningsstoffer ledsager en høj reticulocytprocent, medens man, som tidligere nævnt, hos normale dyr altid ser, at en stor koncentration af modningsstoffer er ledsaget af en lav reticulocytprocent. Stigningen i koncentrationen af modningsstoffer maa antages at bero paa en forøget dannelse, der igen kan opfattes som et led i den stærkt forøgede erytropoese.

En blødningsanæmi giver altsaa en forøgelse af reticulocyterne, men samtidigt en forøgelse af de stoffer, der betinger modningen af disse celler.

XVII. Kapitel. *Andre experimentelle anæmier og deres indflydelse paa indholdet af modningsstoffer i plasma.*

Ved den her foretagne gennemgang af forskellige experimentelle anæmier ser man, at samtlige undersøgte anæmiformer uanset deres oprindelse udmærker sig ved, at der optræder forøgede mængder reticulocytmodningsstoffer i plasma. Dette forhold maa tydes som et led i de kompensatoriske foranstaltninger, organismen raader over til bekæmpelse af den pludselige nedgang i erytrocyternes mængde.

Disse undersøgelsers resultat falder ganske i traad med, at modningsstofmængden er forøget, hvor der er tale om en forøget erytropoese, f. ex. ved den kroniske aareladningsanæmi (Kapitel XV) og svarende til de første levedage, hvor man ligeledes finder en forøget erytropoese (Kapitel XVI).

FJERDE AFSNIT

XVIII. Kapitel. *Undersøgelser over forholdet mellem modningsindex og reticulocyt-mængden hos mennesker.*

Undersøgelserne viser her, naar der for kvindernes vedkommende tages hensyn til menstruationen, samme forhold, som man finder hos de andre dyrearter, nemlig høj reticulocytprocent—lav modningsindex og omvendt. Det maa frem-

hæves, at de værdier, man finder hos mennesker, er lavere end dem, man finder hos dyr med tilsvarende reticulocytprocent.

Menstruationen spiller en stor rolle for størrelsen af modningsindex, idet man ser denne vokse umiddelbart inden menstruationens indtræden.

Man kan maaske tænke sig, at hormonale kræfter i organismen, inden de sætter menstruationen i gang, forbereder organismen til at modvirke blodtabet.

XIX. Kapitel. *Reticulocytmodningsindex hos en patient med anæmia perniciosa.*

Ved undersøgelser af en patient, der lider af anæmia perniciosa, finder man en nedsat mængde af de stoffer, der betinger modningen af reticulocyterne. Ved indgift af leverextrakt ser man en stigning af saavel reticulocyterne som af modningsstoffernes koncentration i blodbanen.

FEMTE AFSNIT

XX. Kapitel. *Kemiske undersøgelser over de i leverextrakter forekommende reticulocytmodnende stoffer.*

Det reticulocytmodnende stof, som findes i leverextrakter, bestaar af en thermolabil fraktion, som kan adsorberes til floridin, og en thermostabil fraktion, der ikke kan adsorberes til floridin.

Den thermostabile fraktion er identificeret som tyrosin og har kun ringe evne til at paavirke reticulocytmodningen in vitro. Den thermolabile fraktion er endnu ukendt; den er i sig selv noget aktiv, men dens reticulocytmodnende evne kan forøges betydeligt ved tilsætning af tyrosin.

XXI. Kapitel. *Undersøgelser over det reticulo-endotheliale systems betydning for koblingen mellem det reticulocytmodnende stof og tyrosin eller et tyrosinlignende stof.*

Medens de i leverextrakterne forekommende reticulocytmodnende stoffer ved tilsætning af tyrosin kunde forøge deres

virkning med hensyn til reticulocytnodningen, viste det sig, at de i plasma forekommende stoffer, naar dette stammede fra normale dyr, ikke kunde aktiveres yderligere ved tyrosin-tilsætning.

Ved totalblokada af det reticulo-endotheliale system falder mængden af modningsstoffer i plasma umiddelbart i tilslutning hertil, hvorefter mængden langsomt stiger, efterhaanden som blokaden ophæves. Samtidigt med at mængden af modningsstoffer aftager, bliver plasma tyrosinaktiverbart. Dette forhold gør det sandsynligt at antage, at tyrosin eller et tyrosinlignende stof i det reticulo-endotheliale system kobles til en endnu ukendt faktor. Herved skulde det reticulocytnodnende stof omdannes til den form, hvori det findes i plasma.

XXII. Kapitel. *Undersøgelser over forskellige organers indhold af reticulocytnodningsstoffer.*

Der er foretaget bestemmelse af reticulocytnodnende stoffer, dels i pressesaft, dels i ekstrakter af tørrede organer, for de sidstes vedkommende er baade den aktive mængde og den tyrosinaktiverbare mængde bestemt. Det viser sig, at der hos de enkelte dyr er en nøje relation mellem mængden af modningsstoffer i plasma og i de undersøgte organer.

Mængden af modningsstoffer (færdigdannede) er ret lav og konstant beregnet pr. g af de forskellige organer, men der findes dog lidt mere i visse organer, f. ex. knoglemarv, lever, muskler og milt. Anderledes forholder det sig, naar man undersøger de enkelte organers modningsstoffers evne til at aktiveres af tyrosin. Det viser sig her, at kun nogle af de organer, der har betydning for erythropoesen, indeholder tyrosinaktiverbare stoffer i større mængder; det drejer sig her i første række om ventriklen, men ogsaa lever og knoglemarv indeholder disse stoffer.

Hvad angaar ventriklen, viser det sig, at man ved tyrosinaktivering af de præformerede modningsstoffer faar virkningen 5—10 gange forøget. Det viser sig yderligere, at dannelsen af disse modningsstoffer er knyttet til den secernerende del af ventriklen, og at der findes mest færdigdannet i pylorus-

partiet, men forholdet mellem præformeret og færdigdannet i de forskellige ventrikelpartier, er ens. Tunica mucosa er det lag, der indeholder mest færdigdannet, men ogsaa ved denne opdeling af ventriklen viser forholdet mellem færdigdannet og præformeret stof sig at være ens.

I fastende ventrikelsekret fra mennesker findes en ringe mængde færdigdannet stof; men tyrosinaktiveringen viser, at man ogsaa her finder store mængder præformeret stof.

Der er saaledes en betydelig overensstemmelse mellem forekomsten af reticulocytmognende stoffer og den af *Castle* beskrevne »intrinsic factor«, der modvirker den perniciøse anæmi.

XXIII. Kapitel. *Tidligere undersøgelser over ventriklens betydning for erytropoesen.*

En del af de tidligere undersøgelser over ventriklens betydning for erytropoesen gennemgaas kort. Disse iagttagelser taget sammen med de i dette arbejde anførte resultater, hvor det er vist, at man finder størst mængde af aktiverbare mogningsstoffer i ventriklen, synes at vise, at der kan være en endnu ikke klarlagt relation mellem det reticulocytmognende stof, tyrosinstofskiftet og den antiperniciøse faktor. Et forhold, der nu er taget op til videre undersøgelser.

LITTERATUR

- Addison, W. H. F. & Richter, M. N. Quart. J. exp. Physiol. 1923, Suppl. 46.
- Alport, A. E. The Lancet, 1928, 215, 170.
- Arnold, J. Virchow's Arch. 1896, 144, 189.
- Askanazy, M. Hdbh. spec. path. Anat. u. Hist. 1927, 1/2, 778.
- Barer, A. P. & Needless, J. R. & Baldrige, C. W. Proc. soc. exp. biol. & med. 1929—30, 27, 176.
- Bondarenko, E. A. & Dulcin, M. S. Fol. haem. 1931, 45, 342.
- Brookfield, R. W. J. Path. and Bact. 1928, 31, 2, 227.
- Burgess, J. P. & Morgan, J. E. Proc. soc. exp. biol. & med. 1931, 28, 371.
- Cappell, D. T. J. Path. and Bact. 1929, 32, 2, 595, 629, 675.
- Cappell, D. T. J. Path. and Bact. 1930, 33, 1, 429.
- Castle, W. B. Journ. amer. med. sci. 1929, 178, 748.
- Castle, W. B. & Townsend, W. C. Journ. amer. med. sci. 1929, 178, 764.
- Castle, W. B. & Townsend, W. C. & Heath, C. W. Journ. amer. med. sci. 1930, 130, 304.
- Castle, W. B. & Heath, C. W. & Strauss, M. B. Journ. amer. med. sci. 1931, 132, 741.
- Cesaris-Demel. Fol. haem. 1907, 4, 1.
- Cohen, B. & Preissler, P. W. Proc. soc. exp. biol. & med. 1930—31, 28, 92.
- Cohn, E. J. & Minot, G. R. & Alles, G. A. & Salter, W. T. Journ. biol. chem. 1928, 77, 325.
- Conner, H. M. Journ. amer. med. ass. 1930, 94, 388.
- Connery, J. E. Journ. amer. med. sci. 1930, 130, 603.
- Crimm, P. D. & Short, D. M. Amer. journ. Physiol. 1934, 108, 324.
- Cunningham, T. D. Arch. int. med. 1920, 26, 405.
- Davidson, L. S. P. Edinburgh med. Journ. 1930, 385, 425.
- Dawson, A. B. The anat. rec. 1933, 53, 143.
- Denecke, G. Zeitschr. f. ges. exp. Med. 1923, 36, 179.
- Donaldson, H. H. The rat. Philadelphia, 1924.
- Drabkin, D. L. & Fitz-Hugh, Th. Amer. Journ. Physiol. 1934, 108, 324.
- Duesberg, R. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1931, 162.

- Ederle, W. *Fol. haem.* 1933, **50**, 15.
 Ehrlich, P. *Berlin. klin. Wchschr.* 1881, **3**, 41.
 Ehrlich, P. *Charité-Annalen*, 1885, **10**, 136.
- Faxén, N. *Acta Pædiatrica*, 1937, Suppl. I
 Fiessinger, N. & Laur, C. M. *Le Sang*, 1930, **4**, 257.
 Forssell, J. *Acta med. scand.* 1939, Suppl. I.
 Friedländer, A. & Wiedemer, C. *Arch. int. Med.* 1929, **44**, 209.
 Friedländer, A. & Wiedemer, C. *Amer. Journ. Dis. Childr.* 1929, **30**, 804.
- Gawrilow, R. *Fol. Haem.* 1929, **38**, 216, 246.
 Gordon, A. S. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1933—34, **31**, 563.
 Gordon, A. S. & Kleinberg, W. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1938, **38**, 360.
 Gutzeit, K. & Hermann, J. *Münch. med. Wchschr.* 1931, **78**, 266.
- Hall, B. E. *Fol. haem.* 1931, **43**, 206.
 Harrop, J. A. *Arch. int. med.* 1919, **23**, 745.
 Hart, Elvehjem. *Journ. biol. chem.* 1928, **77**, 769, 797.
 Hastings, A. & Manery. *Journ. biol. chem.* 1939, **127**, 688.
 Hawes, J. B. *Boston med. and surg. Journ.* 1909, **161**, 493.
 Heath, C. W. & Daland, G. A. *Arch. int. med.* 1930, **46**, 533.
 Heath, C. W. & Daland, G. A. *Arch. int. med.* 1931, **48**, 133.
 Heilmeyer, L. *Deutsch Arch. f. klin. Med.* 1931, **171**, 123, 515.
 Heilmeyer, L. & Oetzel, W. *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* 1931, **171**, 365.
 Heilmeyer, L. *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* 1932, **172**, 128, 341, 628.
 Heilmeyer, L. & Westhäuser, R. *Ztschr. klin. med.* 1932, **121**, 361.
 Heilmeyer, L. & Oortgiese, A. *Zbl. inn. Med.* 1934, **55**, 437.
 Henning, N. & Brugsch, H. *Deutsch. med. Wchschr.* 1931, **1**, 757.
 Henning, N. & Stieger, G. *Klin. Wchschr.* 1930, **2**, 2145.
 Hirschfeld, H. & Hittmair, A. *Fol. haem.* 1925, **31**, 517.
 Hirschfeld, H. *Hdbch. allg. Hämatologie*, 1933, 2/1.
 Holbøll, S. A. *Ugeskr. f. Læger*, 1929, **91**, 1077.
- Isaacs, R. & Brock, B. & Minot, G. R. *Journ. clin. invest.* 1925, **1**, 425.
 Israel, O. & Pappenheim, A. *Virchow's Arch.* 1892, **143**, 419.
 Istomanova, S. T. *Zeitschr. f. ges. exp. Med.* 1926, **52**, 140.
 Ivy, A. C. & Morgan, J. E. & Farrell, J. *Surg. Gynec. and Obst.* 1931, **53**, 611.
- Jacobsen, E. & Plum, C. M. & Milwertz, I. *Nord. Med.* 1939, **3**, 2851.
 Jacobsen, E. & Plum, C. M. *Fol. Haem.* 1942, **66**, 164.
 Jacobsen, E. & Plum, C. M. *Acta physiol. scand.* 1942, **4**, 272.
 Jacobsen, E. & Plum, C. M. *Acta physiol. scand.* 1942, **4**, 278.
 Jacobsen, E. & Plum, C. M. *Acta physiol. scand.* 1943, **5**, 1.
 Jacobsen, E. & Plum, C. M. *Klin. Wchschr.* 1943, **22**, 491.

- Jacobson, B. M. & Subbarow, Y. & Fische, C. A. *New Engl. Journ. Med.* 1935, **212**, 663.
- Jaffe, R. *Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere.* 1936.
- Jørgensen, S. & Plum, C. M. *Ugeskr. f. Læger* 1943, **105**, 787.
- Kato, K. *Fol. haem.* 1932, **46**, 377.
- Kato, K. *Amer. Journ. Dis. Child.* 1937, **54**, 208.
- Key, J. A. *Arch. int. Med.* 1921, **28**, 511.
- Kitajima, K. *Fol. haem.* 1930, **21**, 552.
- Klienenberger-Carl. *Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere.* Leipzig, 1927.
- Klima, R. & Rosegger, H. *Fol. haem.* 1934, **51**, 414.
- Krumbhaar, E. B. *Le Sang*, 1930, **4**, 267.
- Kyer, J. L. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1935, **32**, 1102.
- Kämmerer, H. *Münch. med. Wchschr.* 1933, **79**, 308.
- Langlois, J. P. & Desbouis, G. *Journ. physiol. et pathol. gén.* 1907, **9**, 253.
- Larsen, K. & Skadhauge, K. *Ugeskr. f. Læger*, 1941, **103**, 771.
- Lee, R. I. & Minot, G. R. & Vincent, B. *Amer. Journ. med. Ass.* 1916, **67**, 719.
- Levaditi, C. *Journ. physiol. et pathol. gén.* 1901, **3**, 424.
- McCann, W. S. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1928, **25**, 255.
- Marcussen, P. V. *Fol. haem.* 1938, **61**, 49.
- Marcussen, P. V. *Nord. Med.* 1939, **4**, 2997.
- Marcussen, P. V. *Experimentel polycytæmi paa kaniner.* Kbhv. 1941.
- Mach, R. S. *Le Sang*, 1931, **5**, 299.
- Meulengracht, E. & Schiødt, E. *Acta med. scand.* 1934, **82**, 352, 375.
- Meulengracht, E. & Ohlsen, A. S. *Acta med. scand.* 1934, **82**, 375.
- Meulengracht, E. *Acta med. scand.* 1935, **85**, 50, 79.
- Meulengracht, E. *Nord. med. Tidskr.* 1935, **9**, 865.
- Minot, G. R. & Buchmann, T. E. *Amer. journ. med. sci.* 1923, **166**, 469.
- Minot, G. R. & Murphy, W. P. *Amer. journ. med. ass.* 1926, **87**, 470.
- Minot, G. R. & Castle, W. E. *The Lancet* 1935, **2**, 319.
- Minouch & Schwalm. *Klin. Wchschr.* 1934, 1565.
- Moldawsky, J. *Jahrbch. f. Kinderheilk.* 1927, **116**, 81.
- Morawitz. *Deutsch. Arch. f. exp. Path.* 1909, **60**, 208.
- Morawitz & Pratt. *Münch. med. Wchschr.* 1908, **55**, 1817.
- Morris, R. S. *Clin. Lab. Methods*, London 1913.
- Naegeli, O. *Fol. haem.* 1908, **5**, 525.
- Naegeli, O. *Münch. med. Wchschr.* 1904, **51**, 195.
- Naegeli, O. *Blutkrankheiten und Blutdiagnostik*, 1931.

- Nierenstein, E. Arch. f. ges. Phys. 1920, **179**, 80, 233.
 Nittis, S. Fol. haem. 1930, **41**, 385.
 Nittis, S. Anat. Rec. 1930, **46**, 365.
 Nittis, S. Amer. Journ. med. sci. 1938, **196**, 177.
- Orten, J. M. & Smith, A. H. Amer. J. Physiol. 1934, **108**, 66.
 Osgood, E. E. & Wilhelm, M. M. Proc. soc. exp. biol. and med. 1931—32, **29**, 53.
 Osgood, E. E. Arch. int. med. 1935, **55**, 186.
- Pappenheim, A. Fol. haem. 1907, **4**, 46.
 Pappenheim, A. Fol. haem. 1910, **9**, 577.
 Pepper, O. H. P. Arch. int. Med. 1922, **30**, 801.
 Petri, S. & Bøggild, D. & Ohlsen, A. S. & Busch, F. Acta path. et microbiol. scand. 1935, **12**, 329.
 Petri, S. & Ohlsen, A. S. & Bøggild, D. Acta path. et microbiol. scand. 1935, **12**, 460.
 Petri, S. & Ohlsen, A. S. & Bøggild, D. Acta path. et microbiol. scand. 1936, suppl. 26.
 Petri, S. & Ohlsen, A. S. & Bøggild, D. Hosptd. 1936, 79.
 Petri, S. & Ohlsen, A. S. Acta path. et microbiol. scand. 1936, **13**, 350.
 Plum, C. M. Ugeskr. f. Læger 1939, **101**, 43.
 Plum, C. M. Ugeskr. f. Læger 1941, **103**, 775.
 Plum, C. M. Acta med. scand. 1941, **107**, 11.
 Plum, C. M. Acta physiol. scand. 1942, **4**, 252.
 Plum, C. M. Acta physiol. scand. 1943, **5**, 165.
 Plum, C. M. Acta physiol. scand. 1943, **5**, 175.
 Plum, C. M. Acta physiol. scand. 1943, **6**, 289.
 Plum, C. M. Acta med. scand. 1942, **112**, 151.
 Plum, C. M. Besvarelse af Universitetets prisopgave i klin. medicin, 1939.
 Plum, C. M. & Plum, R. Acta physiol. scand. 1943, **5**, 380.
 Prokowsky, W. Fol. haem. 1930, **39**, 265.
- Riddle, M. C. Arch. int. med. 1930, **46**, 417.
 Robertson, O. H. Journ. exp. Med. 1917, **26**, 221.
 Rohr, K. Fol. haem. 1936, **55**, 305.
 Rosin, H. & Bibergeil. Z. f. klin. Med. 1904, **54**, 196.
- Sappington, Cl. Arch. int. med. 1918, **21**, 695.
 Schilling, V. Fol. haem. 1911, **11**, 327.
 Schilling, V. Fol. haem. 1912, **16**, 95.
 Schilling, V. Virchow's Arch. **234**, 548.
 Schilling, V. Klin. Wchschr. 1928, **7**, 785.
 Schilowa, A. Fol. haem. 1930, **42**, 297.

- Schwarz, H. A. Arch. Pharmacol. sper. 1940, 96, 1.
 Scott. Biochem. Journ. 1923, 17, 166.
 Seyfarth, C. & Jürgens, R. Virchow's Arch. 1928, 266, 676.
 Seyfarth, C. Fol. Haem. 1927, 347, 34.
 Sharp, E. A. Amer. Journ. med. ass. 1929, 93, 749.
 Sjøvall, H. Acta path. et microbiol. scand. 1936, Suppl. I.
 Suzuki. Fol. haem. 1912, 13, 225.
- Tallqvist. Über experimentelle Blutgiftanämien, 1899.
 Tempka, T. & Braun, Br. Fol. haem. 1932, 48, 355.
 Terwan & Heilmeyer. Cit. efter Heilmeyer (1932).
 Trachtenberg, F. Fol. haem. 1932, 46, 1.
 Tøttermann, G. Acta med. scand. 1936, suppl. 127, 201.
 Tøttermann, G. Finsk Läkaresällskapets handlingar, 1936, 76.
- Unger, K. Zeitschr. f. ges. exp. Med. 1933, 89, 484.
 Ungley, M. The Lancet, 1931, 1, 63.
 Ungricht, M. Fol. haem. 1938, 60, 145.
- Whipple, G. H. cit. K. Rohr: Praxis, 1938, Nr. 24.
 Whitby, L. E. H. & Britton, C. J. C. The Lancet 1933, 2, 1173.
 Wilkenson, J. F. Brit. med. Journ. 1930, 1, 227.
 Wilkenson, J. F. Brit. med. Journ. 1932, 1, 325.
 Wintrobe, M. M. & Schumacher, H. B. Amer. journ. anat. 1936, 58, 313.
 Wirth, D. Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere. Wien 1931.

RETTELSER

Side 203:

Arnold, J. Virchow's Arch. 1896, 144, 67.

Castle, W. B., Townsend, W. C. & Heath, C. W. Journ. amer. med. sci.
1930, 180, 304.

Castle, W. B., Heath, C. W. & Strauss, M. B. Journ. amer. med. sci.
1931, 182, 741.

Conner, H. M. Journ. amer. med. sci. 1930, 180, 603.

Drabkin, D. L. & Fitz-Hugh, Th. Amer. Journ. Physiol. 1934, 108, 61.

Side 207:

Seyfarth, C. Fol. Haem. 1927, 34, 7.

